

Elimination und Inaktivierung
von enteropathogenen Viren in
einer Anlage zur
weitergehenden Abwasserreinigung

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
des
Fachbereichs Biologie (23)
der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Al Baz Ismail

Berlin 1984



Elimination und Inaktivierung
von enteropathogenen Viren in
einer Anlage zur
weitergehenden Abwasserreinigung

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
des
Fachbereichs Biologie (23)
der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Al Baz Ismail

Berlin 1984

1. Gutachter: Prof. Dr. J.P. Lopez
2. Gutachter: Prof. Dr. E.R. Lochmann

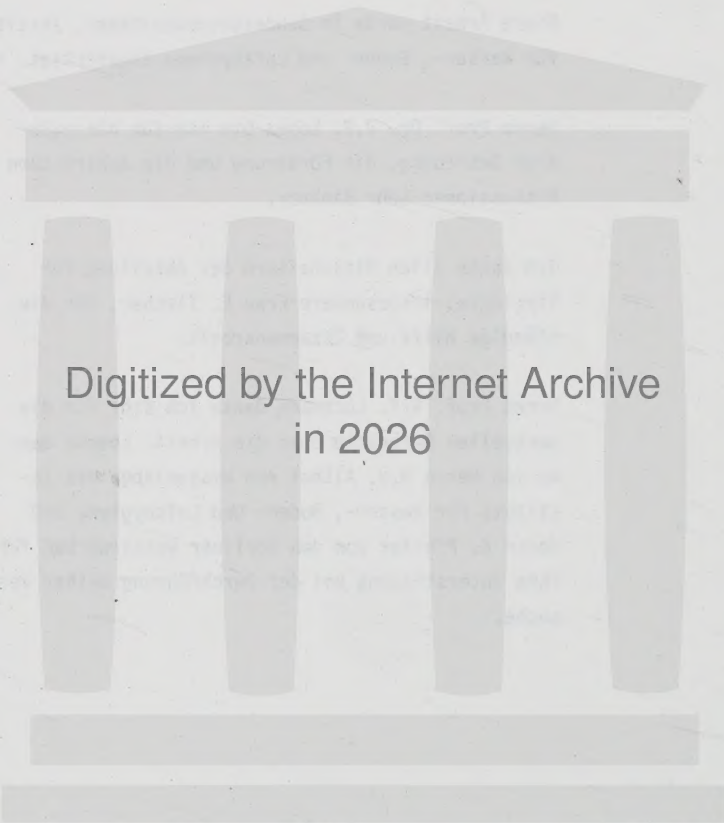
Tag der mündlichen Prüfung: 6. September 1984

Diese Arbeit wurde im Bundesgesundheitsamt, Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene angefertigt.

Herrn Prof. Dr. J.P. Lopez bin ich für die ständige Betreuung, die Förderung und die zahlreichen Diskussionen sehr dankbar.

Ich danke allen Mitarbeitern der Abteilung für Virologie; insbesondere Frau E. Tischer, für die ständige Hilfe und Zusammenarbeit.

Herrn Prof. R.E. Lochmann danke ich sehr für die wertvollen Gespräche über die Arbeit. Ebenso danke ich Herrn H.W. Althof vom Wasserlabor des Instituts für Wasser-, Boden- und Lufthygiene und Herrn K. Pfeifer von den Berliner Wasserwerken für ihre Unterstützung bei der Durchführung meiner Versuche.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546612_0053

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1	ABBILDUNGEN
	1
2	EINLEITUNG
	5
2.1	Enteroviren
	6
2.2	Methoden zur Abwasserbehandlung
	7
2.2.1	Die mechanische Reinigung
	8
2.2.2	Die biologische Reinigung
	9
2.2.3	Die Weitergehende Abwasser Reinigung (WAR)
	9
2.3	Virusinaktivierung durch die Abwasserbehand- lungsmethoden
	10
2.4	Desinfektion
	13
2.5	Problemstellung und Zielsetzung
	15
3	MATERIAL UND METHODEN
	18
3.1	Material
	18
3.1.1	Testviren und Bakterienstämme
	18
3.1.2	Gewebezucht
	18
3.1.3	Chemikalien
	18
3.1.4	Medien und Lösungen
	19
3.1.5	Geräte
	22
3.2	Methoden
	22
3.2.1	Die Herstellung von BGM-Zellkulturen
	22
3.2.2	Vermehrung und Reinigung von Polioviren (Abb.1)
	23
3.2.3	Plaques-Test (Virustitration) von Polioviren
	26
3.2.4	Die Herstellung von MA-104-Zellkulturen
	27
3.2.5	Vermehrung und Reinigung von Rotaviren (nach Babiuk 1977)
	27
3.2.6	Plaques-Test von Rotaviren
	28
3.2.7	Die Bestimmung von freiem Chlor
	29
3.2.8	Die Bestimmung von Uranin A
	30
3.2.9	Virusfiltration und Anreicherung
	32
3.2.10	Virusvermehrung und -züchtung für die WAR-Versuche
	34
3.2.10.1	Vermehrung des Poliovirus I
	34

	Seite
3.2.10.2 Vermehrung des Rotavirus SA 11	34
3.2.11 Züchtung der E.Coli-Suspension für die Chlorungsversuche	35
3.2.12 Versuche zur Inaktivierung von Viren durch Chlor mit der Stopped flow Apparatur	35
3.2.13 Versuche zur Inaktivierung von Viren durch Chlor mit dem "Batchverfahren"	37
3.2.14 Farbstoffversuche in der WAR-Anlage	38
3.2.15 Virenversuche in der WAR-Anlage	39
3.2.16 Versuche zur Inaktivierung von Polioviren in der WAR-Anlage nach der Rohrflockung, Filtration und Ozonung	39
4 ERGEBNISSE	41
4.1 Inaktivierung des Poliovirus I durch Chlor mit der Stopped flow Apparatur (Abb. 4)	42
4.2 Die Inaktivierung des Poliovirus I durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb.5)	43
4.3 Inaktivierung des Cocksackievirus B 1 durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb.6)	43
4.4 Inaktivierung des Cocksackievirus A 9 durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb.7)	44
4.5 Inaktivierung des Echovirus 7 durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb.8)	44
4.6 Inaktivierung des Rotavirus SA 11 durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb. 9)	45
4.7 Einfluß der Wasserinhaltsstoffe auf die Inaktivierung des Poliovirus I durch Chlor ("Batchverfahren")	45
4.7.1 Inaktivierung des Poliovirus I in zwei unterschiedlich behandelten Abwasserproben (Abb. 12)	51
4.7.2 Die Inaktivierung des Poliovirus I bei Anwesenheit von E.Coli-Suspension (Abb. 13 u. 14)	52
4.8 Bestimmung der Uraninkonzentration nach den verschiedenen Behandlungsstufen in der WAR-Anlage (Abb.16)	52

	Seite
4.9	Eliminierung des Poliovirus I nach den verschiedenen Behandlungsmethoden (Rohrflockung, Ozonung und Sandfiltration) der WAR-Anlage (Abb. 17, 18 u. 19) 59
4.10	Eliminierung des Poliovirus I in der WAR-Anlage nach der Ozonung (Abb. 20 u. 21) 59
4.11	Eliminierung des Poliovirus I in der WAR-Anlage nach der Entphosphatung (Abb. 22 u. 23) 60
4.12	Die Eliminierung des Rotavirus SA 11 in der WAR-Anlage nach der Rohrflockung bzw. nach dem Absetzen der Rohrflockung (Abb. 24 u. 25) 61
4.13	Die Eliminierung des Rotavirus in der WAR-Anlage nach der Ozonung bzw. nach der Sandfiltration (Abb. 26 u. 27) 62
4.14	Die Eliminierung des Rotavirus SA 11 in der WAR-Anlage nach der Entphosphatung (Abb. 28 u. 29) 69
5	DISKUSSION 71
6	LITERATURVERZEICHNIS 78
	LEBENSLAUF 92

1 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

- Abb. 1 Bestimmung von PFU/ml der Poliovirus I Fraktionen nach dem Reinigungsverfahren bzw. nach der Ultrazentrifugation.
- Abb. 2 Uranin Eichkurve
- Abb. 3 "Stopped flow" Apparatur
- Abb. 4 Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor in PBS-Lösung mit der "Stopped flow" Apparatur. Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C
- Abb. 5 Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C
- Abb. 6 Die Inaktivierung von Coxsackievirus BI durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C
- Abb. 7 Die Inaktivierung von Coxsackievirus A9 durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C
- Abb. 8 Die Inaktivierung von Echovirus 7 durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C
- Abb. 9 Die Inaktivierung von Rotavirus SA 11 durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Vi-

ren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C.

- Abb. 10 Die Inaktivierung von Enteroviren durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren" (Säulendiagramm). Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C, 600 - 650 mV, 0,22 - 0,46 mg Cl⁻/l.
- Abb. 11 Die Inaktivierung von Enteroviren durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren" (Säulendiagramm). Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C, 650 - 700 mV, 0,35 - 0,65 mg Cl⁻/l.
- Abb. 12 Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor in zwei unterschiedlich behandelten Abwasserproben (sekundäre und tertiäre Behandlung) mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C.
- Abb. 13 Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor bei Anwesenheit von E.Coli-Suspension in einer PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C.
- Abb. 14 Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor bei Anwesenheit von E.Coli-Suspension in einer PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren" (Säulendiagramm). Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C, 550 - 700 mV, 0,18 - 0,38 mg Cl⁻/l.
- Abb. 15 Darstellung der WAR-Anlage des Klärwerkes in Berlin-Ruhleben. A, B, C u. D Probenentnahmestellen.

- Abb. 16 Bestimmung der Konzentrationen an Uranin in den verschiedenen Behandlungsstufen der WAR-Anlage.
- Abb. 17 Quantitative Eliminierung von Polioviren in der WAR-Anlage nach Flockung, Absetzung, Ozonung und Sandfiltration.
- Abb. 18 Eliminierung von Polioviren in der WAR-Anlage nach Flockung, Absetzung, Ozonung und Sandfiltration.
- Abb. 19 Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Polioviren-Versuche nach Flockung, Absetzung, Ozonung und Sandfiltration.
- Abb. 20 Inaktivierung von Polioviren in der WAR-Anlage durch Ozonung.
- Abb. 21 Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Ozonung von Polioviren.
- Abb. 22 Eliminierung von Polioviren in der WAR-Anlage nach der Entphosphatung.
- Abb. 23 Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Polioviren-Versuche nach der Entphosphatung.
- Abb. 24 Eliminierung von Rotaviren in der WAR-Anlage nach Flockung, Absetzung und Sandfiltration.
- Abb. 25 Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Rotaviren-Versuche nach der Flockung, Absetzung und Sandfiltration.
- Abb. 26 Eliminierung von Rotaviren in der WAR-Anlage durch die Ozonung.
- Abb. 27 Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Ozonung von Rotaviren.

Abb. 28 Eliminierung von Rotaviren in der WAR-Anlage nach der Entphosphatung.

Abb. 29 Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Rotaviren-Versuche nach der Entphosphatung.

2 EINLEITUNG

Humanpathogene Viren werden hauptsächlich in Form menschlicher bzw. tierischer fäkaler Exkremente und Urine in mehr als hundert verschiedenen Typen ausgeschieden.

Viren verursachen beim Menschen unterschiedliche Infektionskrankheiten. Das Adenovirus, die Gruppe der Enteroviren (Polio, Coxsackie., Echo.), Reoviren und Hepatitisvirus können Krankheiten wie Paralysis, Aseptische meningitis (Hirnhautentzündung), Myokarditis (Herzmuskelentzündung), konjunktive Gastroenteritis und Virushepatitis, hervorgerufen.

Die Diagnose bzw. die Feststellung der Herkunft einer Virusinfektion bereitet Schwierigkeiten. Sicher ist, daß viele virale Erkrankungen über den Wasserweg zum Menschen gelangen. In den U.S.A. wurden 1971/72 z.B. 79% aller Virushepatitis-Erkrankungen durch Kontamination des Trinkwassers verursacht (Ottis 1976). Hepatitis A Virus scheint nach Peterson, 1983, gegen Chlorung des Wassers stabil zu sein.

Einige Autoren berichten von dem Vorkommen von Viren im Trinkwasser bzw. Oberflächenwasser (Wolf 1971 und Ralfi 1972/73). Enteroviren wurden ebenfalls aus Oberflächenwasser isoliert. Grinstein 1970, isolierte aus einem Fluß, in den Abwasser eingeleitet wurde Echovirus 7 und Poliomyelitisviren. Aus gechlortem Badewasser wurde von Liebscher 1970 Coxsackievirus B3 isoliert. Ormsby und Aitchison 1955 konnten Adenoviren, die mit konjunktiven Erkrankungen und Pharyngitis zusammenhängen, ebenfalls aus gechlortem Badewasser isolieren.

Enteroviren sind eine wichtige Gruppe der Viren, die im Wasser vorkommen und verschiedene Erkrankungen beim Menschen verursachen. Daher werden sie hier besonders behandelt.

2.1 Enteroviren

Enteroviren gehören zur Familie der Picornaviridae. Sie sind im Gegensatz zu Rhinoviren bei einem pH von 3 - 5 eine bis drei Stunden stabil. Enteroviren sind gegen alle Antibiotika, 70%igen Alkohol, 0,3%igen Formaldehyd, 0,1 N HCl und verschiedene Detergentien resistent.

Ein Drittel der Enteroviren agglutinieren mit menschlichen Erythrocyten vom Typ 0, was als Hämagglutinationshemmungstest bei der serologischen Diagnose von Virusinfektionen angewandt wird. Enteroviren besitzen eine unterschiedliche Wirtsspezifität. Die meisten Typen von Polioviren infizieren Affen und Schimpansen, sie können auch in Primär- oder Dauerkulturen aus Nieren bzw. Muskelzellen dieser Tiere isoliert werden.

Sie enthalten eine einzelsträngige RNS mit einer Größe von 20 - 30 nm, MG. 2,5 - 2,8 Millionen daltons, etwa 30% des gesamten Virus. Die Nucleinsäure der Enteroviren besteht aus 12 verschiedenen Genen.

Enteroviren werden mit den menschlichen Faeces ausgeschieden und können in Oberflächen- oder Grundwasser gelangen. Die Kontamination kann verschiedene Wege beschreiten:

- erstens durch Abwässer, die nicht von Viren gereinigt sind,
- zweitens durch Oberflächenwasser, das mit Viren verunreinigt ist (Es wurden z.B. aus 37% des Oberflächenwassers Viren isoliert (Mahdy 1979).).
- drittens gelangen Viren trotz der Adsorptionsfähigkeit des Bodens ins Grundwasser (Elmer und Akin 1971).

Wenn Viren ins Oberflächenwasser gelangen, spielen gewisse Umweltbedingungen für ihre Überlebensfähigkeit eine Rolle. Die Verschmutzung der Gewässer durch Industrieabfälle schützt sie gegen

Oxydation und begünstigt dadurch ihr Überleben. Die Temperatur spielt ebenfalls bei der Überlebensfähigkeit bzw. Inaktivierung der Viren in der Umwelt eine Rolle. Es wurde bei einer Temperatur von 20 - 25°C in einem aquatischen Gewässer eine Virusinaktivierung von 99,99% innerhalb von 2 - 100 Tagen festgestellt (McDermoth 1971).

Es wurde wiederholt von Viruserkrankungen, die zum Menschen auf dem Wasserweg gelangen, berichtet. Genauere Untersuchungen über die Übertragung von Virusinfektionen auf dem Wasserweg sind schwer durchzuführen. Daß das Wasser eine Ursache für eine Virusinfektion beim Menschen sein kann, wird jedoch bei allen Berichten über Infektionsausbreitungen deutlich gemacht. Es soll hier nur an die infektiöse Hepatitisepidemie in Neu Delhi 1955/56, die durch das Trinkwasser übertragen wurde, erinnert werden (Berg 1965).

2.2 Methoden zur Abwasserbehandlung

Mit zunehmender Industrialisierung und Entstehung von Ballungsgebieten nahm das Problem der Trinkwasserherstellung zu. Die Verschmutzung mit Industrieabfällen hat die Gewässer in ihrem natürlichen Reinigungsprozeß sehr stark beeinträchtigt. Daraus folgte ein verstärkter Einsatz bzw. die Neuentwicklung von Kläranlagen für die Abwasserbehandlung und die Trinkwasserherstellung.

In einer Kläranlage läuft die Abwasserbehandlung in mehreren Schritten ab. Die mechanische Reinigung, die biologische Reinigung und die WAR (weitergehende Abwasserreinigung).

2.2.1 Die mechanische Reinigung

Bei dieser Reinigungsstufe werden Schmutzstoffe des Abwassers mit Hilfe von Sieben und Rechen entfernt, wobei ein Reinigungseffekt von 30 - 35% erzielt werden kann (Martz 1981).

Außerdem gehört zu der mechanischen Reinigung die Beseitigung von Fetten und Benzinresten mit Hilfe von Abscheidern, die eine Trennung aufgrund des unterschiedlichen spezifischen Gewichts der Fettstoffe und des Abwassers ermöglichen.

Danach folgt die Beseitigung des Sandes mit Hilfe von Rinnen bzw. Kammern (Sandfang). Hier unterscheidet man zwischen Langsandfang, Rundsandfang, Tiefsandfang und belüftetem Sandfang. Anschließend folgt das Absetzbecken, in dem das Abwasser vom Schlamm gereinigt wird.

Der aus dem Absetzbecken gewonnene Rohschlamm wird in einen Faulbehälter eingeleitet, wo Gärungsprozesse durch Bakterien stattfinden. Es handelt sich um fakultative Bakteriengruppen (säurebildende und Methanbakterien), die unter anaeroben Bedingungen hochmolekulare organische Verbindungen und Kohlenhydrate, Fette und Eiweiße zu organischen Säuren, Alkoholen, Aldehyden, CH_4 und CO_2 abbauen können.

Der ganze Prozeß verläuft in einem zunächst sauren Bereich (säurebildende Bakterien) und in einer zweiten Phase in einem alkalischen Bereich (Methanbakterien). Vorwiegend wird die saure Phase unterdrückt, damit die Methangärung optimal verlaufen kann.

Nach diesem biologischen Verfahren wird Methan und CO_2 gewonnen, weshalb man von Methangärung spricht (Sixt 1983).

2.2.2 Die biologische Reinigung

Bei der biologischen Reinigung wird mit verschiedenen Möglichkeiten wie der Verregnung von Abwasser für den landwirtschaftlichen Bedarf oder der Versickerung des Abwassers in Rieselfeldern (Bodenfiltration) gearbeitet.

Eine andere Möglichkeit ist die Nutzung von Abwasserteichen. Hier unterscheidet man zwischen Absetzteichen (Faulteichen) in denen anaerobe Verhältnisse herrschen (Entschlammung) und fakultativ anaeroben Teichen in denen anaerobe und aerobe Abbauprozesse stattfinden, und Teiche, die nach dem Belebtschlammverfahren funktionieren.

Bei diesen verschiedenen Teichsystemen sorgen die Mikroorganismen für den Abbau von gelösten organischen Verbindungen. Es wird angegeben, daß diese Reinigungsstufe zwischen 70 - 95% Reinigungseffekt leisten kann (Martz 1981).

2.2.3 Die Weitergehende Abwasser Reinigung (WAR)

Bei dieser Stufe soll das Wasser weiter von organischen Stoffen wie Stickstoff- und Phosphatverbindungen gereinigt werden. Hierbei spielen physikalische und chemische Methoden wie die Filtration durch Sand oder die Mikrosiebung, Flotation, Flockung und Fällung, Ozonung, Ionenaustausch und die Eliminierung des Phosphates eine Rolle. Als biologische Verfahren kommen die Landbehandlung und Schönungsteiche in Frage.

Die Sandfiltration hat sich nach Logsdon 1982 bei der Abwasserreinigung sehr gut bewährt. Bei der Sandfiltration wird ein Mehrschicht-Sandfilter aus Quarzsand und Anthrazit, Körnungsgröße 0,8 - 3 mm, Filterhöhe 0,6 - 1,2 m, verwendet.

Unter den chemischen Verfahren der WAR spielt die Flockung und Fällung eine wichtige Rolle. Gelöste und kolloid gelöste organische bzw. anorganische Verbindungen werden durch die Zugabe von Flockungsmitteln (meistens Eisensalze, Aluminiumsalze und Ca(OH)_2) in schwerlösliche Verbindungen überführt und ausgefällt.

Die Flockung dient ebenfalls der Entfernung von Phosphat aus häuslichem und gewerblichem Abwasser. Phosphat kommt ins Abwasser in organisch gebundener Form, oder als anorganisches Ortho- und Polyphosphat. Seine Entfernung aus dem Abwasser schützt die Gewässer vor der Eutrophierung.

2.3 Virusinaktivierung durch die Abwasserbehandlungsmethoden

Bei den biologischen und chemischen Abwasserbehandlungsmethoden werden nicht alle Viren beseitigt. Die Desinfektion des Abwassers sorgt ebenfalls nicht für die totale Eliminierung der Viren aus dem Abwasser. Rohwasserquellen werden immer stärker mit pathogenen Keimen verschmutzt, wodurch die Möglichkeit aus ihnen Trinkwasser herzustellen, schwieriger sein wird.

Es gibt eine ganze Reihe von Methoden, die zur Eliminierung von Viren bei der Abwasserbehandlung angewandt werden. Die primäre Behandlung des Abwassers bzw. das Absetzenlassen kann zu einer 75%igen Eliminierung der Viren nach 24 stündiger Sedimentation führen (Berg 1973).

Andere Autoren berichten von einem geringeren Effekt der Vireneliminierung bei der primären Abwasserbehandlung (Bendinelli 1967). Die Sammelbecken, in denen das Abwasser für längere Zeit gespeichert wird, ermöglichen eine einfache Methode für die Virenbeseitigung. Ihre Effektivität hängt von der Qualität und der Zusammensetzung des Abwassers ab. Es wurde berichtet, daß bei diesem Verfahren 99,9% der Polio I und Echo. 12 Viren während 60 Tagen Spei-

cherung bei 10°C bzw. 20 Tagen bei 30°C beseitigt werden können (Bagdasarjan 1970 und Clarke 1956).

Bei der Verwendung von "Trickling filters" werden unklare Ergebnisse erzielt. Shuval 1969 erreichte mit dieser Methode eine 16 - 100%ige Viren-beseitigung. Andere Autoren haben ebenfalls wenig Effektivität damit erzielt (Carlson 1969).

Die Verwendung von aktiviertem Schlamm scheint im Gegensatz zu der von Oxydationsbecken eine sehr effektive Methode bei der Viren-beseitigung aus dem Abwasser zu sein. Im Feldexperiment wurde eine 70%ige Vireneliminierung mit aktiviertem Schlamm erreicht (Berg 1971). Mack et.al. 1962 berichten von über 90%iger Vireneliminierung bei der Verwendung von Schlamm. England et.al. 1967, berichten ebenfalls von 76 - 90%iger Eliminierung von drei Poliovirustypen durch die Schlammbehandlung. Eine weitere Methode der Vireneliminierung im Abwasser ist die Verwendung von Flockungsmitteln. Metallionen, Polyelektrolyte, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ und Eisen III Chloride werden am meisten verwendet. Gilcreas und Kelly 1955 erreichten eine 40%ige Beseitigung des Coxsackievirus bzw. 90%ige Beseitigung der koliformen Bakterien mit $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. Die Anwesenheit von zweiwertigen Kationen verstärkt die Effektivität des Flockungsmittels (Thorup et.al. 1970). Der gleiche Autor hat eine 12%ige Beseitigung der Polioviren mit 10 mg/l $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ und eine 79%ige Beseitigung der gleichen Viren, wenn das Wasser 50 mg/l $\text{Ca}(\text{OH})_2$ enthält, festgestellt. Chang et.al. 1958 erreichte eine 99%ige Eliminierung der Viren mit 25 mg/l $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$.

Brunner und Sproul 1971 haben bei einem pH-Wert von 6,4 eine bessere Eliminierung der Viren als bei pH 5 und 7,4 erreicht. Die Verwendung von Metallhydroxiden wie Natrium, Kalium und Magnesium, sollte den Flockungsprozeß verstärken (Sproul 1971). Die Verwendung von $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ mit FeCl_3 in Abwässern mit geringem Anteil an organischem Material bewirkte eine 99,9%ige Viren-beseitigung (Berg 1971).

Bei der Verwendung von Polyelektrolyten als Flockungsmittel werden mit kationischen Elektrolyten größere Effekte erzielt als mit anionischen. Chaudhuri und Engelbrecht 1970 erzielten eine 99%ige Beseitigung von T4 Phagen und 99 - 99,6%ige Beseitigung des Coliphagen MS2 durch Polyelektrolyten. Die gleichen Autoren berichten, daß die Wirkung der Elektrolyte als Flockungsmittel von der Salzkonzentration des Fe^3 abhängt.

Sandfiltration gehört zu den Methoden der Virusbeseitigung im Abwasser. Hierbei erzielt die langsame Filtration bessere Ergebnisse als die schnelle Filtration.

Gilcreas, et.al. 1955 erreichten mit der Sandfiltration von Coxsackieviren bei einer Geschwindigkeit von $7,5 \text{ l/min} \cdot \text{m}^2$ eine 99%ige Beseitigung, während bei einer Filtergeschwindigkeit von 75 l/min nur 10% der Viren eliminiert werden konnten.

Virusadsorption am Sand ist pH abhängig. Bei niedrigem pH wird bessere Adsorption erreicht. Ebenfalls nimmt die Adsorption bei Verwendung von höheren Konzentrationen an Kationen wie CaCl_2 , NaCl und CaCO_3 zu (Drewry und Elliassen 1968).

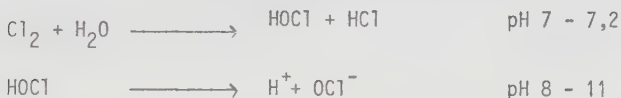
Als biologisches Verfahren der Virenbeseitigung im Abwasser gilt seit einiger Zeit die Versickerung des Abwassers im Boden. Gebra 1976 berichtet von einer 99,99%igen Vireneliminierung bei der Landbehandlung des Abwassers. Die Infiltrationsfähigkeit des Bodens bei der Viruseliminierung hängt von vielen Faktoren wie Bodentyp, pH, Feuchtigkeit, Salzkonzentration, Tensiden, Pestiziden und organischer Zusammensetzung des Bodens ab. Der Hauptmechanismus der Virenbeseitigung im Boden ist die Adsorption der Viren an die Bodenpartikel (Sproul 1969). Lund und Ronne 1973 berichten, daß die chemische und biologische Abwasserbehandlung wirkungsvoller bei der Virenbeseitigung ist, als ihre Inaktivierung.

D.h., Viren können im Boden für bestimmte Zeit in Abhängigkeit von der Eigenschaft des Bodens überlebensfähig sein. Z.B. begünstigen

Feuchtigkeit und niedrige Temperaturen des Bodens bei Anwesenheit von CaCl_2 und MgCl_2 die Überlebensfähigkeit von Viren (Bagdasaryan 1964). Falls Viren im Boden adsorbieren und nicht inaktiviert werden, besteht die Möglichkeit ihres weiteren Transports und damit einer Kontamination des Grundwassers. Z.B. können starke Regenfälle eine Verdünnung der Ionenkonzentration im Boden verursachen und damit eine Deadsorption bzw. einen Transport der Viren bewirken (Carlson 1972).

2.4 Desinfektion

Chlor ist ein weitverbreitetes Desinfektionsmittel. Seine inaktivierende Wirkung hängt ab von der Bildung hypochloriger Säure (freies Chlor) im Wasser:



Bei Anwesenheit von Ammonium und organischen Verbindungen entstehen Chloramin bzw. organische Chlorverbindungen (gebundenes Chlor), die geringe viruzide Wirkung haben.



1 mg/l hypochlorige Säure inaktiviert 99,6% Cox.A2 Virus innerhalb von 100 sec bei 27 - 29°C und in 7 min bei 3 - 6°C (Clarke et.al. 1954).

Adenoviren werden bei 0,1 mg/l freiem Chlor in 20 sec zu 99,8% inaktiviert. Weidenkopf 1958 stellte beim Poliovirus I in einer Minute bei 0°C mit 1 mg/l HOCl/l eine 99%ige Inaktivierung fest. Der

gleiche Effekt wurde bei der gleichen Chlorkonzentration in 10 min erreicht (Weidenkopf 1958).

Bei Scarpino et.al. 1972, wurde mit 1 mg freiem Chlor/l bei 5°C in 100 sec eine 99%ige Inaktivierung des Poliovirus I erreicht. Anwesenheit von Salzkonzentrationen wie CaCl_2 erhöhen die Desinfektionswirkung des Chlors (Sproul et.al. 1970).

Gebundenes Chlor wirkt weniger inaktivierend auf pathogene Keime als freies Chlor. Bakterien werden durch Chlor schneller abgetötet als Viren.

Durch Reaktion des freien Chlors mit organischen Verbindungen des Abwassers entstehen toxische Verbindungen wie Chloramin, Trichlorstickstoff und Chloroform.

Bellar et.al. 1974 haben Konzentrationen von Chloroform und Trihalogenmethan in Höhe von 37 - 150 µg/l in gechlortem Trinkwasser festgestellt.

Chlor reagiert ebenfalls mit bestimmten Aminosäuren im Abwasser wie Uracil, Cytosin, Methionin und Tyrosin, woraus sich giftige Produkte bilden können. Z.B. gehört chloriertes Methionin zu den am meisten mutagenen Stoffen im Abwasser (Bossart 1983). In der letzten Zeit wird zunehmend Ozon mit/ohne Chlor als Desinfektionsmittel verwendet. Ozon scheint eine stärkere Inaktivierung der pathogenen Keime zu bewirken als Chlor.

Coliphagen f2 wurden bei Verwendung von 15 mg Ozon/l (Restozon 0,015 mg/l) innerhalb von 5 min in einem sekundär behandelten Abwasser total inaktiviert (Pavoni 1972).

Katzenelson et.al. 1974 berichten, daß Polio I Viren mit 0,3 - 1,5 mg Ozon/l in 85 - 120 sec zu 99,5 - 99,99% inaktiviert wurden. Burtleson et.al. 1982 berichten, daß Ozon die Mutagenität aromatischer Amine inaktiviert, während bei Alkyl-, Nitroaromatischen und

Nitrosoverbindungen keine Wirkung erzielt wurde.

2.5 Problemstellung und Zielsetzung

Die Trinkwassergewinnung bzw. die Wiederverwendung von Abwasser wird zu einem immer dringenderen Problem. Der Wasserverbrauch und die Abwasserbelastung (besonders durch schwer abbaubare organische Stoffe) durch Industriebetriebe und private Haushalte führen zu einer immer stärker werdenden Belastung von Kläranlagen und Gewässern, wodurch die Trinkwasserherstellung erschwert wird.

Bei den herkömmlichen Klärwerken werden die Stickstoff (N)- und Phosphor (P)-Verbindungen des Abwassers durch mechanisch-biologische Reinigung beseitigt und das Wasser für die Verwendung als Trinkwasser in Oberflächengewässer eingeleitet. Durch die Stickstoff-Phosphor-Beseitigung wird die Vermehrung von Algen verhindert und dadurch Sauerstoffmangel in den Gewässern vermieden.

Die Stickstoffeliminierung ist jedoch mit einigen Nachteilen verbunden. Zum Beispiel beeinflußt das dabei entstehende freie Ammonium die Wasserchlorung negativ. Außerdem kann durch Ammonium die Keimung bzw. Wiederkeimung des Wassers begünstigt werden. Ebenfalls von Nachteil ist die Entstehung von Nitraten und Nitriten als Oxydationsprodukte des Ammoniaks. (Nitrit wird z.B. mit der Entstehung der Säuglingsmethämoglobinämie und Nitrosaminen, welche in Verdacht stehen, krebserregend zu sein, in Verbindung gebracht.) (Niemitz, W. 1974)

Industrieabfälle enthalten meistens schwer abbaubare organische Verbindungen, die eine Anlage mit biologisch-mechanischem Reinigungsverfahren leicht passieren und ins Trinkwasser gelangen können. Dies kann u.U. zu schwerwiegenden Krankheiten mit epidemischem Ausmaß führen.

Ein Ausbau bzw. eine Erweiterung der bestehenden Kläranlagen wird deshalb dringend notwendig. Das Hauptziel einer weitergehenden Abwasserreinigung ist es, mit chemisch-physikalischen Methoden schwer abbaubare organische Stoffe zu beseitigen, damit diese nicht in der Nahrungskette angereichert werden. Zu diesen Methoden gehören die Adsorption, Oxydation und die chemische Fällung. Ein Nachteil dieser Verfahren ist die Schlammbehandlung. Der Schlamm ließe sich beseitigen, wenn Fällungsmittel, die sich zurückgewinnen lassen wie z.B. Kalk, verwendet werden. Wirklich gründlich wird das Problem der Schlammbehandlung nur gelöst, wenn das industrielle Abwasser wenig schwer abbaubare organische Stoffe enthält. Das bedeutet, daß von den Industriebetrieben individuelle Reinigungsmaßnahmen für ihre Abwasser (spezifischer Ionenaustausch, Elektrolyse und Elektrodialyse) unternommen werden müssen.

Aus dieser Problematik entstand die Zielsetzung, in dieser Arbeit die Eliminierung und Inaktivierung von pathogenen Enteroviren bei der weitergehenden Abwasserreinigung am Beispiel des WAR-Klärwerks Berlin-Ruhleben zu untersuchen. Wir wollten feststellen; wie effektiv die weitergehenden Abwasserreinigungsverfahren wie Flockung, Ozonung, Entphosphatung und Sandfiltration bei der Eliminierung pathogener Viren sind, d.h. welche Möglichkeiten die WAR bietet, nicht nur im Hinblick auf die Beseitigung von gesundheitsschädlichen chemischen Stoffen, sondern auch hinsichtlich der Inaktivierung von Viren.

Das Wasser aus der WAR wird nach der Bodenfiltration bzw. nach dem Einleiten in Oberflächengewässer zum Zweck der Trinkwasserverwendung mit Desinfektionsmitteln behandelt. Es ist nicht ausreichend bekannt, welche Chlorkonzentrationen nötig wären, um bei dem Wasser aus der WAR eine ausreichende Eliminierung von Viren zu erreichen.

Deshalb wurden Chlorungsversuche durchgeführt. Es sollte der Keimabtötungseffekt des Chlors auf die pathogenen Viren Polio I, Cox.BI,

Cox. A9, Echo. 7 und Rotavirus SA 11 in Abhängigkeit von Konzentration an freiem Chlor, Redoxpotential und Zeit unter Laborbedingungen ermittelt werden. Außerdem war der Einfluß von organischem Material auf die Inaktivierung von Viren durch Chlor zu untersuchen. Dies wurde mit zwei Abwasserproben (sekundäre bzw. tertiäre Behandlung) im Batchverfahren durchgeführt.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

3.1.1 Testviren und Bakterienstämme

Poliovirus I LSC Zab.

Coxsackievirus A9 Bozeck

Coxsackievirus B1 Conn-5

Echovirus 7 Wallace

Rotavirus SA-11

Escherichiacoli Bakterium ATCC 11229

Poliovirus, Coxsackievirus A9, B1 und Echovirus 7 wurden vom Deutschen Reference Center für Enteroviren bezogen.

Rotavirus SA-11 stammt aus dem ATCC, Rockville, U.S.A.

3.1.2 Gewebezucht

BGM-Zellen, Affennierenzellen aus dem afrikanischen "Buffalo Green Monkey".

MA 104 Zellen sind ebenfalls Affennierenzellen aus Macacus rhesus.

3.1.3 Chemikalien

Agar Noble, Difco Laboratories. Michigan, U.S.A.

Phenolrot "Phenolsulfonphthalin"

Foetal Calf Serum von Gibco, Virus Mycoplasma screened, Minimum Essential Medium (Eagle) MEM, mit Earles Salzen, L-Glutamin und nicht essentiellen Aminosäuren, ohne Natriumcarbonat.

Gibco Laboratories, Grand Island Biological Company, New York, U.S.A.

Antibiotika:

Penicillin-G-Natriumsalz, 1000,000 IE. Hoechst AG. Ffm.

Streptomycinsulfat. Heyl, Chem. Pharm. Fabrik Berlin.

Hepes:

N-2-Hydroxyethylpiperazin-N-ethansulfonsäure, Serva Feinbiochemika, Heidelberg.

Ethylendinitrilotetraessigsäure-dinatriumsalz (Dihydrat), (Titriplex III), Merk, Darmstadt.

Trypsin 1:250, Difco Laboratories, U.S.A.

DEAE-Dextran, Pharmacia fine chemicals, Uppsala, Sweden.

Nuncion Platten (Petriscalen für die Zellforschungsarbeit, Nunc. Intermed. Dänemark-Roskilde.

3.1.4 Medien und Lösungen

Lactose-Pepton-Bouillon Kulturmedium für E. coli. nach Ejkan.

Herstellung:

Pepton aus Casein	15 g/l
Lactose	3 g/l
Dikaliumhydrogenphosphat	4 g/l
Kaliumdihydrogenphosphat	1,5 g/l
Natriumchlorid	5 g/l
pH-Wert	6,8 $\pm$ 0,2

Trypsin Lösung

Herstellung:

Trypsin	10	g/l MEM
Versen (Titriplex III)	5	g/l MEM

Na, Ka-Puffer für die Chlorbestimmung

Herstellung:

Na_2HPO_4	240	g/l
KH_2PO_4	460	g/l

MEM-Medium

Herstellung:

MEM Pulver	9,6	g/l
Natriumhydrogencarbonat	1,12	g/l
Hepes	3,4	g/l
pH-Wert	7,12 - 7,2	

FAS-Lösung

Herstellung:

1,106 g $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in 100 ml dest. H_2O auflösen,
dazu 2 ml 2 N H_2SO_4 zugeben, anschließend auf 1 L. auffüllen.

Penicillin-Streptomycin Lösung

Herstellung:

1 Ampulle Penicillin 10^6 E mit 1 Ampulle Streptomycin 1 g Base,
werden auf 100 ml Tridest. H_2O aufgefüllt und steril filtriert.

<u>Natriumthiosulfat Lösung</u>	0,1 N
<u>Chlorbleichlauge</u>	10 g/l
<u>Neutralrot Lösung</u>	1/3000

Es wird mit einem groben Filter filtriert und durch Autoklavierung sterilisiert.

PBS Lösung

Herstellung:

NaCl	8 g/l
Na ₂ HPO ₄	1,15 g/l
KH ₂ PO ₄	0,20 g/l

DPD Lösung

Herstellung:

1,1 g Diethyl-P-phenylendiaminsulfat werden in 20 ml 2n Schwefelsäure mit 25 ml Kompleixonlösung aufgelöst und auf 1 l tridest. H₂O aufgefüllt.

0,02 m Titriplex III Lösung (Kompleixonlösung)

Alle Lösungen wurden durch Filtration durch ein Membranfilter (Porendurchmesser 0,22 µm) sterilisiert.

3.1.5 Geräte

Fluorometer SPF 125, American Instrument Company "Aminco" mit einer Xenon-Lampe, Part No. 422-848. Trafo. 220-110 N.

Eppendorphotometer, Fa. Eppendorf.

MSE High Speed 18 Zentrifuge, Haake-Mess-Technik GmbH & Co.

Minifuge 2 Klein zentrifugen Typ 4123, Heraeus-Christ GmbH, Osterode.

MeBelektroden:

Platinelektrode Ingold Typ. Pt. 801-NS

Bezugselektrode (Kalomel) mit gesättigter KCl-Lösung Ingold
Typ 303-NS.

3.2 Methoden

3.2.1 Die Herstellung von BGM - Zellkulturen

Für die virologische Arbeit werden in der Regel Primärkulturen von menschlichen oder tierischen Zellen gewonnen. Diese Zellkulturen werden durch mehrere Passagen (Übertragungen) transformiert und in ihrer Physiologie bzw. in ihrem Stoffwechsel verändert. Diese permanenten Zellkulturen haben die Eigenschaft von malignen Zellen; sie besitzen unterschiedliche Kerngrößen und verlieren ihre normale Kontaktinhibition. Man unterscheidet Zellkulturen, die ein epitheliales oder fibroblastisches Wachstum aufweisen. Die BGM-Zellen stammen aus Affennierenzellen und sind für bestimmte Viren wie Polio bzw. Cox. empfänglich.

Die Zellen werden in Vierkantplastikflaschen gezüchtet und bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Bei der Zellzüchtung geht man von einer Zellzahl von 10^5 /ml aus. Nach 5 Tagen Inkubation bilden die Zellen

einen dichten Rasen von Zellgewebe.

Für die Übertragung werden die Zellrasen mit 10 ml 1% Trypsin-Lösung gewaschen und mit weiteren 10 ml bei 37°C fünf Minuten inkubiert, wodurch sich diese Zellen ablösen. Danach folgt die Homogenisierung der Zellen mit Hilfe einer Pipette. Die so homogenisierten Zellen werden im MEM-Medium + 10% FKS + Antibiotika verdünnt und anschließend in die Gewebekulturflaschen verteilt (120 ml pro Flasche).

3.2.2 Vermehrung und Reinigung von Polioviren (Abb. 1)

Wenn eine Zelle mit einem Virus infiziert wird, entsteht eine enge Beziehung zwischen Virus und Wirtszelle. Die Virusvermehrung bzw. Reproduktion in die Wirtszellen läuft in mehreren Schritten ab:

1. Adsorption des Virus an die Zellmembran
2. Penetration der Virusnucleinsäure in die Zelle
3. Die Virusreifung

Hier unterscheidet man zwischen unabhängiger Virus-Zellbeziehung und abhängiger Virus-Zellbeziehung. Unabhängige Virus-Zellbeziehung bedeutet, daß das Virus-Genom hier ohne das Zell-Genom tätig wird, d.h., daß der Stoffwechsel und die Enzyme der Zelle für die Produktion von Virusbausteinen benötigt werden bis zur Bildung von kompletten Viren und ihrer Freisetzung aus der Zelle. Die abhängige Virus-Zellbeziehung basiert auf der Integration der Virus-Nucleinsäure in das Zellgenom. So wird die Virus-Nucleinsäure reproduziert und an die Tochterzellen weitergegeben.

Für unsere Untersuchungen war es notwendig, die Virussuspension auf einen höheren Titer zu bringen, um den Plaques-Test für Desinfektionsversuche optimal durchführen zu können. Wichtig war auch, daß die Virussuspension von organischen Stoffen, welche die Redoxpotential- bzw. die Chlorkonzentrationsmessungen störten, gereinigt wurde.

Abgesehen davon sollte die Virenaggregatbildung durch die Behandlung mit Freon abgebaut werden.

Aus diesem Grunde wurde die folgende Methode von Floyd 1976 angewandt.

Durchführung:

- Es werden BGM-Zellkulturen mit einem konfluierenden Rasen im MEM + 1% FKS verwendet.
- Das Medium wird abgossen, anschließend wird mit 3 - 4 ml Virussuspension (Infektionsmultiplizität ca. 100 PFU pro Zelle) beimpft. Es wird bei 37°C eine Stunde inkubiert.
- Die Zellkulturen werden mit einem "Overlay" aus 100 ml MEM + 2% FKS Antibiotika überschichtet.
- 11 - 13 Stunden wird bei 37°C inkubiert.
- Die Kulturzellen werden zweimal mit 10 ml PBS gewaschen. Anschließend werden 7 ml PBS zugegeben, und die Zellen werden abgekratzt.
- Die Zellsuspension wird in Falcon-Zentrifugenröhrchen pipetiert. Die Kulturflaschen werden mit 3 ml PBS gewaschen und in dieser Lösung zur Zellsuspension gegeben.
- Es wird bei 250 g 10 Minuten zentrifugiert.
- Der Niederschlag wird mit 6 ml PBS ohne Mg^{2+} oder Ca^{2+} resuspendiert. Dazu werden 4 ml Freon 113 gegeben und mit Hilfe eines Mixers eine Minute homogenisiert (jeweils 10 Sekunden, anschließend 10 Sekunden Pause).
- Die entstandenen zwei Phasen werden bei 800 g 10 Minuten lang separiert. Die obere Phase wird mit einer Pasteur Pipette abgetrennt.

Virusreinigung

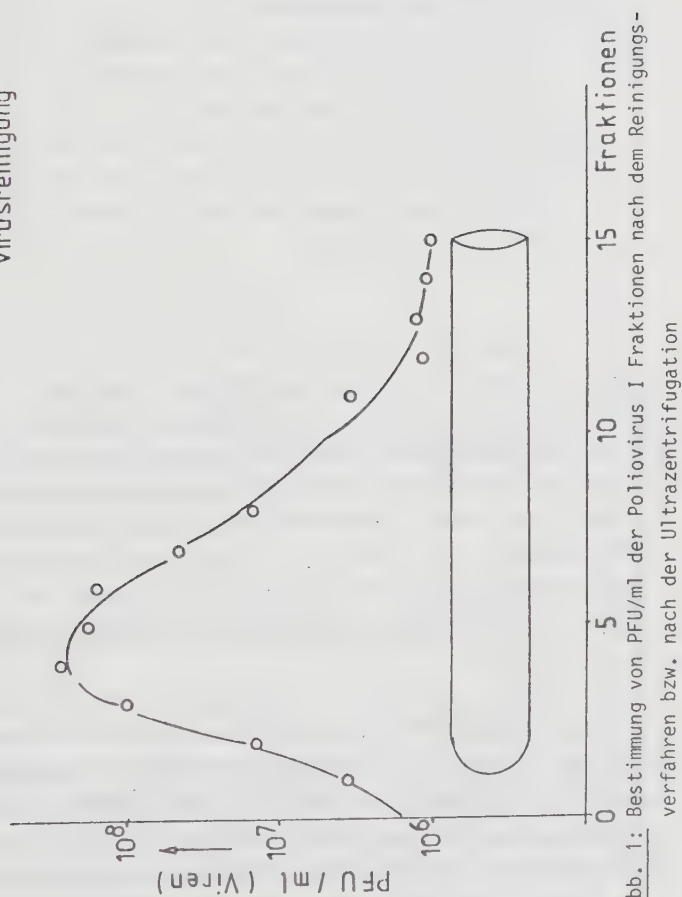


Abb. 1: Bestimmung von PFU/ml der Poliovirus I Fraktionen nach dem Reinigungs-
verfahren bzw. nach der Ultrazentrifugation

- Diese Extraktion wird zweimal mit 6 ml PBS wiederholt. Anschließend werden die drei wäßrigen Phasen zusammengepoolt und gegen PBS 12 Stunden dialysiert.
- Es wird eine 10 - 30% Saccharose Gradienten pH 7,2, in 0,05 M PBS für die SW 27 Rotor gemischt.
- Anschließend werden 9 ml des Extraktes in jedes Röhrchen überlagert und zwei Stunden in einem SW 27 Rotor bei 4°C und 25.000 upm zentrifugiert.

3.2.3 Plaques-Test (Virustitration) von Polioviren

Für die Mengenbestimmung von Viren wird der Plaques-Test verwendet. Dieses Verfahren beruht auf der Bestimmung von Infektionseinheiten eines Virus. Diese sind definiert als "Plaques Forming Units" (PFU). Der Plaques-Test für Viren ist der Methode zur Bestimmung von Bakteriophagen-Konzentrationen ähnlich. Er ist präziser als die elektronenmikroskopischen Zählmethoden, welche die Gesamtanzahl an Viren darstellen.

Für den Plaques-Test werden in der Regel Zellkulturen in Petrischalen oder Röhrchen (5 ml) vorbereitet. Nachdem die Zellkulturen als geschlossenes Gewebe entstanden sind, wird die Mediumflüssigkeit abgegossen bzw. aufgesaugt. Die Virussuspension wird in einer Verdünnungsreihe vorbereitet, die entweder mit sterilem PBS oder mit MEM angesetzt wird. Aus dieser Verdünnungsreihe wird pro Petrischale mit 0,3 ml Virussuspension beimpft. Danach werden die Petrischalen bei 37°C für eine Stunde inkubiert (Adsorption). Während dieser Zeit wird 2% Nobel-Agar vorbereitet, autoklaviert und bei 45°C im Wasserbad temperiert.

Ein Doppelmedium aus MEM wird ebenfalls bei 37°C temperiert. Es wird ein "Overlay" hergestellt aus 1 Teil 2 x MEM + Antibiotika + 4% FKS + 1 Teil 2% Nobel-Agar. Mit diesem "Overlay" werden die Petrischalen nach der Adsorption der Viren überschichtet. Anschließend wird für 2 Tage bei 37°C inkubiert. Danach wird eine Färbung mit Neutralrotkonzentration (1/3000) durchgeführt.

Für die Färbung wird eine Mischung aus 1 Teil 2% Nobel-Agar und 1 Teil Neutralrot verwendet.

3.2.4 Die Herstellung von MA 104-Zellkulturen

MA 104 Zellen (Macacus, Rhesusaffenniere) sind für die Adsorption und die Infektionsbestimmung des Rotavirus zugänglich. Die Züchtung und Vorbereitung dieser Zellkulturen verläuft genauso wie die Züchtung von BGM Zellkulturen.

3.2.5 Vermehrung und Reinigung von Rotaviren (nach Babiuk 1977)

Rotavirus wurde erstmals 1969 beschrieben. Es handelt sich um eine für Mensch und Tier stark pathogene Virusart. Rotavirus verursacht bei neugeborenen Kindern eine starke Darm- und Magenentzündung, die zu dem Tode führen kann (Gastroenteritis). Bei Tieren (Lämmern, Schweinen) verursacht er schwere Durchfallerkrankungen. Rotavirus vermehrt sich im Intestinaltrakt und wird mit dem Stuhl ausgeschieden.

Die Isolierung und Kultivierung des Rotavirus war bis jetzt sehr schwierig, bis von einigen Autoren (Babiuk 1977) herausgefunden wurde, daß Trypsin die Kultivierung und Vermehrung des Rotavirus stark steigert. Die Ursache für diesen Effekt des Trypsins liegt darin, daß Trypsin als proteolytisches Enzym die nichtaktiven Teile der Virussuspension aktiviert, bzw. daß Trypsin toxisch wirkende Sub-

stanzen wie Interferone oder Antikörper neutralisiert.

Die Autoren haben festgestellt, daß Konzentrationen von 1 - 10 µg/ml Trypsin im "Overlay" die Rotavirusvermehrung verstärken. Es wurde auch angegeben, daß bestimmte kationische Polymere wie Diethylaminoethyl-dextran die Bildung von Rotavirus-Plaques im "Overlay" verstärken. Es scheint, daß diese Polymere die Sulfatpolysaccharide binden, dem Agar eine positive Ladung geben und dadurch die Virendiffusion beschleunigen und ihre Infektiosität erhöhen.

Durchführung:

Es werden konfluierende Zellkulturen von MA 104 vorbereitet. Das Medium wird abgossen, anschließend wird mit MEM + Antibiotika ohne Serum dreimal gewaschen. Es wird mit 4 ml Virussuspension Rotavirus beimpft. Infektionsmultiplizität 30 PFU/Zelle. Danach wird eine Stunde bei 37°C inkubiert (Adsorption). Es wird mit einem "Overlay" aus 100 ml MEM + Antibiotika + 5 µg/ml Trypsin überschichtet und anschließend bei 37°C inkubiert. Nach 16 Stunden wird das Medium abgossen und weiter verfahren, wie bei der Poliovirusvermehrung erwähnt.

3.2.6 Plaques-Test von Rotaviren

- Es werden MA 104 Zellkulturen in Petrischalen vorbereitet und ca. 2 - 3 Tage bei 37°C inkubiert.
- Die Zellkulturen werden dreimal mit 3 ml MEM + Antibiotika gewaschen.
- Medium wird aufgesaugt.
- Es wird mit 0,3 ml Rotavirussuspension (aus den jeweils verschiedenen Verdünnungsstufen) beimpft.

- Eine Stunde wird bei 37°C inkubiert.
- Anschließend wird mit einem "Overlay" aus 1 Teil 2% Nobel-Agar + 1 Teil 2 x MEM + Antibiotika + 5 µg/ml Trypsin + 50 µg/ml Dextran beschichtet und dann etwa eine halbe Stunde ruhig liegen gelassen.
- Zwei Tage wird bei 37°C inkubiert.
- Anschließend wird die Färbung mit Neutralrot bzw. die Plaqueszählung durchgeführt.

3.2.7 Die Bestimmung von freiem Chlor

Die Bestimmung des freien Chlors wurde mit der DPD-titrimetrischen/colorimetrischen Methode durchgeführt (nach "American Public Health Association 1971").

Prinzip: N,N-Diethyl-Phenylendiamin reagiert mit dem freien Chlor unter Bildung eines rosaroten Farbstoffes. Die Probe kann photometrisch bei 530 nm oder titrimetrisch mit einer Eisenammoniumphosphat-Lösung bestimmt werden.

Durchführung:

5 ml DPD-Reagenz + 5 ml K, Na-Phosphat Puffer mit der Chlorprobe auf 100 ml auffüllen. Die Bestimmung wird photometrisch oder titrimetrisch durchgeführt.

Auswertung (nach der titrimetrischen Bestimmung:

$$\text{mg Cl}^-/\text{l} = \frac{\text{ml Titrationslösung} \cdot 100}{\text{ml Probevolumen}}$$

3.2.8 Die Bestimmung von Uranin A

Uranin hat sich bei vielen Autoren als ein sehr geeignetes Färbemittel, bei der Verfolgung von unterirdischen (Grundwasser) Strömungen, Fließgeschwindigkeitsrichtung und dem Nachweis von versickerten Oberflächenwassern bewährt (Käss 1964).

Uranin wird quantitativ mit Hilfe eines Fluorometers bis zu einer Verdünnungsstufe von 10^{-11} g/l bestimmt. Der spektrale Verlauf seiner Fluoreszenz zeigt ein Extinktionsmaximum bei 514 nm. Das Maximum der Fluoreszenz (Anregung) liegt bei 489 nm. Beide Wellenlängen wurden bei einer Spaltbreite von 0,1 mm bestimmt. Uranin wird durch Licht, Ozon, Chlor und Chlordioxid oxydiert und verliert dadurch seine Fluoreszenzeigenschaft.

Uranin besitzt ein pH-Optimum im alkalischen Bereich (pH 8 - 9). Der Einfluß des pH auf Uranin hängt von seiner tautomeren Eigenschaft ab. Uranin ist nur als Anion und in schwacher Konzentration fluoreszierend, d.h., im neutralen und alkalischen Bereich liegt Uranin als einwertiges bzw. zweiwertiges Anion vor. Im sauren Bereich dagegen liegt es als einwertiges Kation vor und dieses ist nicht fluoreszierend.

Die Anwesenheit anderer Farbstoffe im Abwasser, wie Eosin und Humusstoffe, führt zu einer Fluoreszenzlöschung der Uraninbestimmung.

Die Konzentrationsbestimmung des Uranins wird mittels eines Spectrophotofluorometers SPF 125 durchgeführt.

Durchführung der Uraninbestimmung:

- Es wird eine Uranineichreihe, Konz. (10^{-6} - 10^{-11} g/l) vorbereitet (Abb. 2).
- Die Abwasserproben werden vor der Messung bei 8000 rpm abzentrifugiert und mit verd. NaOH alkalisch gemacht (pH 7 - 8).

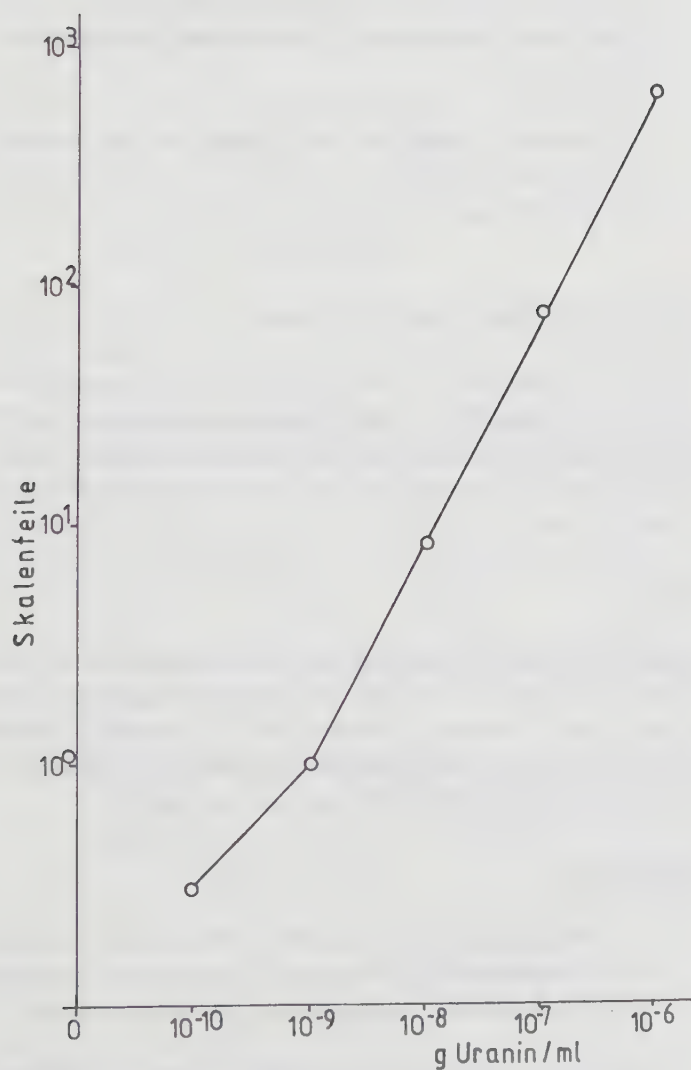


Abb. 2: Uranin Eichkurve

- Das Gerät wird in der Reihenfolge - Lampe, "Power" und Xenonlampe - eingeschaltet.
- Es wird bei einer "Excitations-Wellenlänge von 490 nm, einer Emissionswellenlänge von 515 nm und einer Spaltbreite von 0,1 mm gearbeitet.
- Alle Messungen werden mit Quarzküvetten von 1 cm Schichtdicke durchgeführt.

3.2.9 Virusfiltration und Anreicherung

Bei den routinemäßigen Virusbestimmungen in geklärtem Wasser müßte, damit keine pathogenen Viren ins Trinkwasser gelangen, mit größeren Wasservolumina gearbeitet werden. Im Rahmen unseres Labors wurde eine Methode der Virenanreicherung aus größeren Volumina fertig geklärten Wassers erprobt.

Material:

Z-Plus Mikro-Klean Filterpatrone mit einem autoklavierbaren Gehäuse, Silikonschlauch mit autoklavierbaren Anschlüssen, peristaltische Pumpe (500 ml bis 5 l/Minute); Nutrient Broth (4 g/100 ml); 10 mM $MgCl_2$; MEM + 10% FKS; Falcon Zentrifugenröhrchen; Milliporefilter; Neutralrot (0,13 g/100 ml); BGM-Zellen.

Durchführung:

- Die Wasserprobe wird mit geöffnetem Filterventil aufgesaugt anschließend wird das Filterventil geschlossen und die Pumpe auf die gewünschte Geschwindigkeit (2 l/min) eingestellt.
- Es wird 1 Liter Nutrient Broth- $MgCl_2$ (4% NB + 10 mM $MgCl_2$ pH 7) vorbereitet und autoklaviert.

- Das Nutrient Broth wird mit geöffnetem Filterventil langsam aufgesaugt, und nach 15 min. Elutionszeit wird das Filtrat in einem sterilen Gefäß gesammelt.
- Das Filtrat wird mit 1 n HCl auf pH 3,5 eingestellt, 10 min. gerührt und abzentrifugiert.
- Das Präzipitat wird in 20 ml MEM + 10% FKS aufgelöst und mit steriler NaOH auf pH 7 eingestellt.
- Drei vollbewachsene BGM-Flaschen werden mit 10 ml Trypsin gewaschen und bei 37°C bebrütet.
- Die Zellen werden mit 15 ml MEM + 10% FKS + Antibiotika suspendiert.
- Das aufgelöste Präzipitat wird zu den BGM-Zellen zugegeben und 30 - 60 Minuten bei 37°C bebrütet. Währenddessen wird 2% Nobel-Agar bei 45°C temperiert.
- Die Platten werden mit 7 - 10 ml Zellen + Präzipitat-Gemisch beimpft.
- Zu dem Nobel-Agar wird vor dem Abgießen Neutralrot-Lösung zugegeben (0,13 g/100 ml).
- Die Platten werden mit 15 ml Agar + Neutralrot abgegossen und 2 Tage bei 37°C bebrütet, anschließend wird die Plaques-Zählung durchgeführt.

3.2.10 Virusvermehrung und -züchtung für die WAR-Versuche

3.2.10.1 Vermehrung des Poliovirus I

- Es werden zugewachsene Kulturen von BGM-Gewebezuchtzellen vorbereitet.
- Medium wird abgegossen, anschließend werden die BGM-Zellen mit 4 - 5 ml Virussuspension beimpft und 30 - 60 Minuten bei 37°C bebrütet. Währenddessen wird ein "Overlay" aus 100 ml MEM + 10% FKS + Antibiotika (10^5 Unit/ml) vorbereitet.
- Nach der Bebrütung werden die Zellen mit 100 ml "Overlay" beschichtet und 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Wenn am nächsten Tag der Viren-CPE auf dem Zellrasen sichtbar ist, werden die Zellen 3 x eingefroren und aufgetaut, wodurch die Extraktion der Viren aus den Zellen ermöglicht wird.
- Die Virussuspension wird in Falcon-Zentrifugenröhrchen (50 ml/ Röhrchen) aufgefüllt und mit Ultraschall, 100 kHz, 5 min behandelt. Die Ultraschallbehandlung dient der Konzentrierung des Virusproteins bzw. dem Abbau der Virenaggregatbildung.

3.2.10.2 Vermehrung des Rotavirus SA 11

- MA 104 Gewebezuchtzellen, die zugewachsen sind, werden 3 x mit einfachem MEM-Medium gewaschen und mit 3 - 5 ml Virussuspension beimpft. Danach werden die Zellen 30 - 60 Minuten bei 37°C inkubiert.
- Es wird ein "Overlay" aus 100 ml MEM-Medium + 1 ml Antibiotika + 2,5 µg/ml Trypsin vorbereitet. Nach der Inkubation werden die Zellen mit dem vorbereiteten "Overlay" (100 ml) beschichtet.

- Die weitere Behandlung verläuft wie bei der Poliovirus I Vermehrung.

3.2.11 Züchtung der E. Coli-Suspension für die Chlorungsversuche

Mit dem E.Coli-Stamm ATCC 11229 werden 100 ml steriles Lactose-Pepton-Bouillon-Kulturmedium beimpft. Die Kulturflasche wird über Nacht inkubiert, danach die Zellen in der Kühlzentrifuge 15 min (300 g) abzentrifugiert und 3 x mit steriler PBS-Lösung gewaschen.

3.2.12 Versuche zur Inaktivierung von Viren durch Chlor mit der Stopped flow Apparatur

Bei der Feststellung der Keimabtötungsgeschwindigkeit durch die Chlorbehandlung spielen die Mischverhältnisse bzw. der Zeitverlust bei der Probeentnahme hinsichtlich der Zuverlässigkeit der Ergebnisse eine wichtige Rolle. Daher wurde im Rahmen unseres Instituts eine Wasseranlage entwickelt, die eine Misch- und eine Reaktionsstrecke aufweist.

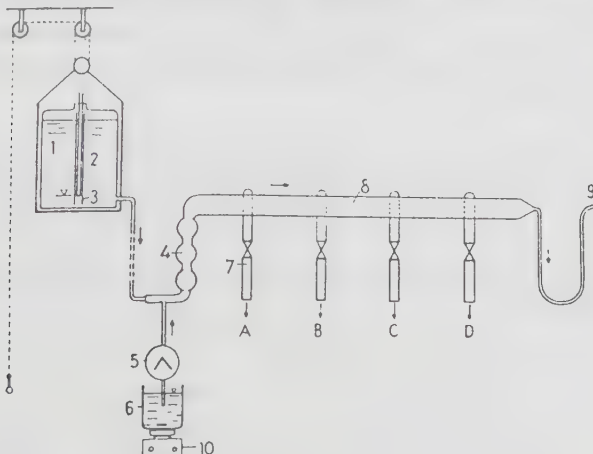


Abb. 3: "Stopped flow Apparatur" nach Carlson, S. 1968

Die Versuchsordnung besteht aus einem Wasserbehälter (1), einer Niveauregelung (2), einem Schutzrohr, um das Durchmischen von Wasser und Luft zu verhindern (3), einer Mischkammer, um die Verteilung der Keime in der Reaktionsstrecke (Kontaktrohr) zu erreichen (4), einer Feindosierpumpe für die kontinuierliche Keimzugabe (5), einem Keimsuspensionsbehälter (6), A, B, C, D - Schliffhähne für die Probeentnahme (7), einem Glasrohr, in dem der Kontakt der Keime mit Chlor stattfindet (8), einem verstellbaren Wasserablauf (9) und einem Magnetrührer (10).

Durch die Apparatur fließt gechlortes Wasser mit einer konstanten Fließgeschwindigkeit (600 ml/min).

Die Keime werden durch die Dosierpumpe kontinuierlich zugegeben. Nach ungefähr 0,2 sec findet die Vermischung von Chlor und Keimsuspension statt. Durch die kugelförmigen Mischkammern ist eine optimale Durchmischung der Chlor-Keimsuspension möglich.

Vor Beginn wird der Versuchsbehälter 24 Stunden mit hochgechlortem Wasser gefüllt. Dann läßt man Trinkwasser durch die Anlage laufen, wobei Keime zugegeben werden. Hier wird die Kontrollprobe entnommen. Anschließend wird das Trinkwasser auf Chlorwasser umgeschaltet. Chlorwasser läßt man 1/2 Stunde durch die Anlage laufen. Dann wird das Redoxpotential mit Hilfe eines Schreibers und eines pH/mV-Meters eingestellt. Parallel wird die Chlorkonzentration (freies und gebundenes Chlor) gemessen.

Dann wird die Keimsuspension zugegeben. Nach 5 Minuten werden die Proben von den verschiedenen Reaktionsstrecken entnommen. Die Proben werden in Reagenzgläsern aufgenommen, in denen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ enthalten ist. Dadurch wird die Reaktionszeit durch die Neutralisation von Chlor eingestellt.

3.2.13 Versuche zur Inaktivierung von Viren durch Chlor mit dem "Batchverfahren"

Bei den Inaktivierungsversuchen in der Wasseranlage wird die verwendete Virussuspension sehr stark verdünnt. Diese erwiesen sich als ungeeignet, um optimale und präzise Ergebnisse für die Virusinaktivierung zu erhalten.

Mit dem "Batchverfahren" ist es uns gelungen, mit kleinen Mengen von gechlortem Wasser zu arbeiten (100 ml) und gute Redoxpotential- bzw. Chlorkonzentrationswerte zu bekommen. Die Durchmischung von Chlorwasser und Virussuspension lag in einem akzeptablen Bereich (2 - 3 Sekunden).

Durchführung:

Es werden zwei 200 ml Bechergläser vorbereitet. Ein pH/mV-Meter wird an einen Schreiber angeschlossen. An den Voltmeter werden eine Platinelektrode und eine Bezugselektrode (Kalomel) angeschlossen.

Das für die Probe bestimmte Becherglas wird mit 200 ml sterilem PBS aufgefüllt, auf den Magnetrührer gestellt und ständig gerührt. Der pH-Wert wird auf 7,2 eingestellt. Die Elektroden werden in die Flüssigkeit eingetaucht und der Nullwert eingestellt (350 - 400 mV).

Dann wird Chlorbleilauge tropfenweise zugegeben, um damit das gewünschte Redoxpotential einzustellen. Die Einstellung dauert 1/2 - 1 Stunde.

Währenddessen wird die Bestimmung der Konzentration an freiem Chlor mit Hilfe von DPD/FAS-Reagenz durchgeführt. Wenn ein konstanter Wert für das Redoxpotential bzw. für freies Chlor erreicht ist, wird 1 ml Virussuspension zugegeben. Die Proben werden über einen Zeitraum von 2 Minuten in Abständen von 5 - 10 Sekunden entnommen (Stoppuhr). Die Entnahme wird mit Hilfe von Spritzen (2 ml), die vor Beginn des Versuchs mit 0,5 ml 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ aufgefüllt werden, vorgenommen.

Es werden insgesamt 2 ml Proben entnommen. Der Versuch wird mit 100 ml Lösung durchgeführt.

Mit dem zweiten Becherglas wird 100 ml PBS + 1 ml Virussuspension als vergleichende Kontrolle parallel gerührt und daraus die Kontrollprobe entnommen.

3.2.14 Farbstoffversuche in der WAR-Anlage

Zunächst wurde der Verlauf des Wassers nach den verschiedenen Behandlungsmethoden bestimmt.

Durchführung der Versuche:

- Es werden 10 l Uranin A vorbereitet (5 g/l).
- Durch einen Gummischlauch wird das Uranin mit Hilfe der Dosierungspumpe der Rohrflockungsstufe in die Anlage eingegeben.
- Aus dem Uraninbehälter wird ein Glasrohr mit einem zweiten Glasbehälter, aus dem das Uranin in die Anlage eingegeben wird, verbunden. Mit Hilfe des Glasrohrs wird die Durchflußgeschwindigkeit des Uranins in der Anlage eingestellt. Das Uranin A wird mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 2,5 l/h in die Anlage eingegeben.
- Die Proben werden alle 10 Minuten nach den folgenden Behandlungsstufen entnommen:

- vor der Rohrflockung
- nach der Rohrflockung
- nach dem Absetzen
- nach der Filtration.

- Der Versuch dauert 5 Stunden. Über einen Zeitraum von 3,5 Stunden wird Uranin A eingegeben.
- Es wird mit ausgeschaltetem Ozon, um eine Oxidation des Urans zu vermeiden, gearbeitet.
- Proben werden im Labor abzentrifugiert und fluorometrisch bestimmt.

3.2.15 Virenversuche in der WAR-Anlage

Hiermit wollten wir die Fähigkeit der Anlage, Viren quantitativ nach verschiedenen Behandlungsmethoden zu beseitigen, untersuchen. Dafür wurden 4 Wochen lang Poliovirus I und das Affenstamm Rotavirus SA 11 gezüchtet.

Durch die Viruszüchtung haben wir insgesamt 5 l Poliovirus I bzw. 5 l Rotavirus SA 11 mit einem Titer von etwa 10^8 PFU/ml erhalten.

3.2.16 Versuche zur Inaktivierung von Polioviren in der WAR-Anlage nach der Rohrflockung, Filtration und Ozonung

- 2,5 l Poliovirus werden aufgetaut und auf 5 l Uraninlösung ($2,5 \cdot 10^{-3}$ g/ml) aufgefüllt.
- Viren + Farbstoff werden in die Anlage mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 2 l/h eingegeben.
- Proben werden nach den verschiedenen Behandlungsstufen wie folgt entnommen:

vor der Rohrflockung, nach 0, 2, 5, 10 min und anschließend
alle 20 min,
nach der Rohrflockung, nach 0, 5, 10 min und anschließend
alle 10 min,
nach dem Absetzen, nach 0 min und anschließend alle 10 min,
nach der Filtration, nach 0 min und anschließend alle 10 min.

Die Zugabe von Viren und Farbstoff läuft bis zu 180 min. Ab 125
min wird die Ozonanlage eingeschaltet.

- Proben werden abzentrifugiert, anschließend wird die Uranin-
bestimmung bzw. der Plaques-Test durchgeführt.
- Für die Bestimmung mittels Plaques-Test werden 4,5 ml + 0,5 ml
10 x MEM Medium gemischt, damit Verunreinigungen der Gewebe-
zucht-Platten vermieden werden konnten.

4 ERGEBNISSE

Fast alle Mikroorganismen benötigen für ihr Wachstum ein bestimmtes Redoxpotential (aerobe Organismen höhere als anaerobe), damit ihr Stoffwechsel bzw. ihre Biosynthese aufrecht erhalten werden können (Rabotnowa 1963).

Durch die Erhöhung des Redoxpotentials infolge der Oxidationswirkung des Chlors wird ein keimabtötender Effekt erreicht. Chlor erhöht nicht nur das Redoxpotential, sondern es bewirkt eine Inaktivierung bestimmter Enzyme der Mikroorganismen, z.B. der Triosephosphatdehydrogenase (Carlson 1968).

Bei Viren entsteht eine chlorviruzide Wirkung durch die Denaturierung der Virusproteinhülle bzw. der Virusnucleinsäure (O'Brien 1979).

In der Literatur werden unterschiedliche Werte für die keimabtötende Wirkung des Chlors angegeben. Der Grund dieser unterschiedlichen Angaben liegt in der Reaktion des Chlors mit den unterschiedlichen Wasserinhaltsstoffen. Dieser Umstand macht es unmöglich, die Chlorkonzentration als alleinigen Faktor der Keimabtötung zu verwenden.

Carlson 1968 hat dieses Problem vereinfacht, indem er das Redoxpotential als Faktor der Keimabtötung angenommen hat. Auf Grundlage dieser Feststellung haben wir unsere eigenen Chlorungsversuche durchgeführt. Um das Problem der Chlorzehrung bzw. den Oxydationsschutz der Keime (durch Virenaggregatbildung und organische Stoffe) zu vermeiden, haben wir mit gereinigter Virussuspension (ohne organische Stoffe bzw. Virenklumpen) gearbeitet. Außerdem haben wir den Einfluß der Wasserinhaltsstoffe auf die Chlorkonzentration bzw. auf das Redoxpotential untersucht, indem wir Viren in unterschiedlichen Suspensionen (PBS, sekundäres und tertiäres Abwasser) gechlort haben.

4.1 Inaktivierung des Poliovirus I durch Chlor mit der Stopped flow Apparatur (Abb. 4)

Es wurde ein Virus-Titer von 10^8 PFU/ml verwendet. Der Virus wurde vor der Anwendung vermehrt und von organischen Substanzen gereinigt. (s. Reinigungsverfahren S.27)

Der Virusinhalt (10 ml) wurde in einer Dosierungsspritze aufgefüllt und mit PBS auf 50 ml verdünnt.

Versuchsbedingungen:

Wassergeschwindigkeit:	36 l/Stunde
Dosierungsgeschwindigkeit der Spritze:	30 ml/Stunde, pH-Wert 7,2

Versuche:

- Bei 450 mV Redoxpotential und 0,1 mg Cl^- /l freiem Chlor.
- Bei 570 mV Redoxpotential und 0,21 mg Cl^- /l freiem Chlor.
- Bei 665 mV Redoxpotential und 0,26 mg Cl^- /l freiem Chlor.

Diese Versuche wurden mit drei verschiedenen Redoxpotentialen durchgeführt. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Es läßt sich feststellen, daß die Virusinaktivierung vom Redoxpotential, der Chlorkonzentration und der Kontaktzeit abhängig ist. Mit der Zunahme des Redoxpotentials, der Chlorkonzentration und der Kontaktzeit nimmt die Virusinaktivierung zu.

Nach diesem Versuch wurde bei 665 mV (0,26 mg Cl^- /l) innerhalb 23,5 sec 98% der Viren inaktiviert. Bei 570 mV (0,216 mg Cl^- /l) wurden in 23,5 sec 98,57% der Viren inaktiviert.

Bei dem niedrigen Redoxpotential 450 - 500 mV (0,1 mg Cl^- /l) wurde bei der gleichen Kontaktzeit wie vorher eine 44%ige Inaktivierung der Viren erreicht. Eine 100%ige Inaktivierung wurde mit 570 mV und 665 mV nach 1 min Kontaktzeit festgestellt.

4.2 Die Inaktivierung des Poliovirus I durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb. 5)

Es wurden folgende Versuche durchgeführt:

Bei 650 - 665 mV und 0,38 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 680 - 700 mV und 0,35 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 670 - 700 mV und 0,5 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 550 - 600 mV und 0,18 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 500 - 550 mV und 0,12 mg Cl^-/l freiem Chlor

Es ließ sich bei diesen Versuchen feststellen, daß Poliovirus I bei 500 - 550 mV (0,12 mg Cl^-/l) nach 2 min Kontaktzeit mit Chlor zu 61,1% inaktiviert wurde.

Bei 550 - 600 mV (0,18 mg Cl^-/l) wurde eine 84,3%ige Inaktivierung der Viren nach 2 min Reaktionszeit festgestellt. Die höchste Inaktivierung war bei 680 - 700 mV (0,35 mg Cl^-/l) zu beobachten. Es ließ sich nach 20 sec eine 99,47%ige bzw. nach 30 sec eine 99,99%ige Inaktivierung der Viren feststellen, während bei 650 - 665 mV (0,38 mg Cl^-/l) erst nach 2 min Reaktionszeit mit Chlor eine 97%ige Inaktivierung erreicht werden konnte.

4.3 Inaktivierung des Coxsackievirus B 1 durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb. 6)

Bei 670 - 700 mV und 0,65 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 650 - 660 mV und 0,46 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 550 - 616 mV und 0,2 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 500 - 550 mV und 0,1 mg Cl^-/l freiem Chlor

Coxsackievirus B 1 wurde mit 500 - 550 mV (0,1 mg Cl^-/l) nach 2 min Reaktionszeit mit Chlor zu 60% inaktiviert. Bei höherem Redoxpotential (550 - 616 mV, 0,2 mg Cl^-/l) lag die Inaktivierung nach 2 min

bei 71% (etwas niedriger als bei Polio I Virus). Mit 650 - 660 mV (0,32 - 0,46 mg Cl^-/l) wurde Cox. B 1 nach 1 min zu 79,6% inaktiviert. Nach 2 min erreichte die Inaktivierung 96,23%. Bei 670 - 700 mV (0,65 mg Cl^-/l) wurde Cox. B 1 nach 100 sec zu 99,47% inaktiviert. Eine 99,99%ige Inaktivierung war erst nach 2 min zu beobachten.

4.4 Inaktivierung des Coxsackievirus A 9 durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb.7)

Bei 650 - 700 mV und 0,6 - 0,8 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 630 - 675 mV und 0,45 - 0,6 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 580 - 630 mV und 0,2 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 550 - 600 mV und 0,18 - 0,23 mg Cl^-/l freiem Chlor

Es schien bei diesem Virus eine ebenfalls spezifische Reaktion auf Chlor zu geben. Er wurde nach 1 min Kontaktzeit mit Chlor bei 580 - 630 mV (0,2 mg Cl^-/l) zu 99,63% inaktiviert. Bei 650 - 700 mV (0,6 mg Cl^-/l) wurde der Virus nach 80 sec total inaktiviert.

4.5 Inaktivierung des Echovirus 7 durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb. 8)

Bei 700 - 750 mV 0,8 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 650 - 700 mV 0,32 mg Cl^-/l freiem Chlor

Bei 600 - 650 mV 0,26 mg Cl^-/l freiem Chlor

Es ließ sich hier bei 600 - 650 mV (0,26 mg Cl^-/l) nach 1 min Reaktionszeit eine 48,6%ige Inaktivierung feststellen. Nach 2 min stieg der Grad der Inaktivierung auf 81%. Bei höherem Redoxpotential schien der Virus sich ähnlich zu verhalten wie Cox. A 9. Er wurde bei 650 - 700 mV (0,32 mg Cl^-/l) nach 1 min total inaktiviert. Bei 700 - 750 mV

(0,8 mg Cl^-/l) war nach 20 sec eine totale Inaktivierung festzustellen.

4.6 Inaktivierung des Rotavirus SA 11 durch Chlor mit dem "Batchverfahren" (Abb. 9)

Bei 650 - 700 mV und 0,52	mg Cl^-/l freiem Chlor
Bei 600 - 650 mV und 0,22	mg Cl^-/l freiem Chlor
Bei 550 - 600 mV und 0,14	mg Cl^-/l freiem Chlor
Bei 650 - 700 mV und 0,6 - 0,8	mg Cl^-/l freiem Chlor

Es ließ sich hier eine empfindliche Reaktion auf Chlor feststellen. Rotavirus wurde bei 550 - 600 mV (0,14 mg Cl^-/l) nach 2 min zu 94,94% inaktiviert. Bei 600 - 650 mV (0,22 mg Cl^-/l) wurde eine Inaktivierung von 99,33% festgestellt. Bei 650 - 700 mV (0,52 mg Cl^-/l) wurde der Rotavirus nach 15 sec zu 99,91% inaktiviert und nach 20 sec war eine totale Inaktivierung feststellbar.

4.7 Einfluß der Wasserinhaltsstoffe auf die Inaktivierung des Poliovirus I durch Chlor ("Batchverfahren")

Wenn organische Substanzen bzw. Mikroorganismen im Wasser vorhanden sind, wird der Inaktivierungseffekt des Chlors auf die pathogenen Keime stark beeinflusst. Durch die organischen Stoffe werden die Keime gegen die Oxidationswirkung des Chlors geschützt.

Mit den folgenden Versuchen wollten wir diesen Effekt untersuchen. Dazu sollte der Einfluß des organischen Materials des Abwassers auf die Chlorzehrung bzw. auf das Redoxpotential untersucht werden. Als organische Inhaltsstoffe des Wassers können organisch (gelöste) oder kolloid gelöste Substanzen bzw. pathogene Keime wie die fäkalen E. Coli-Bakterien auftreten.

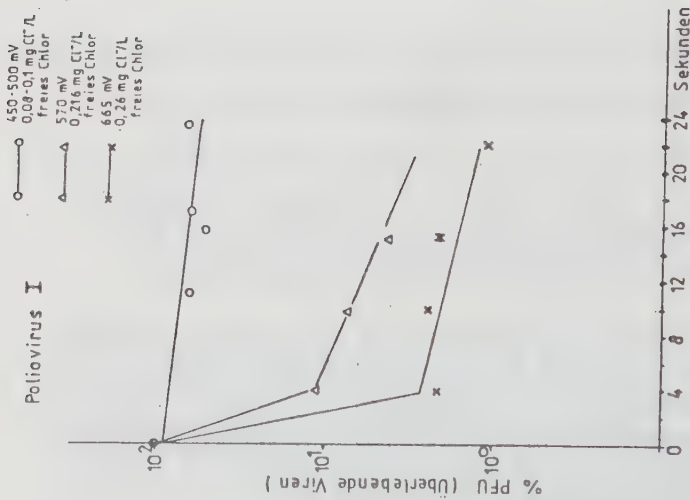


Abb. 4: Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor in PBS-Lösung mit der "Stopped flow" Apparatur. Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C

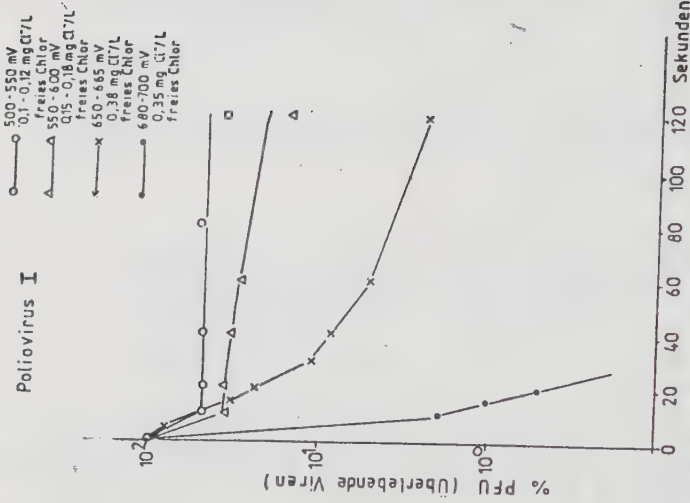


Abb. 5: Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentration an freiem Chlor und Zeit pH 7,2, 25°C

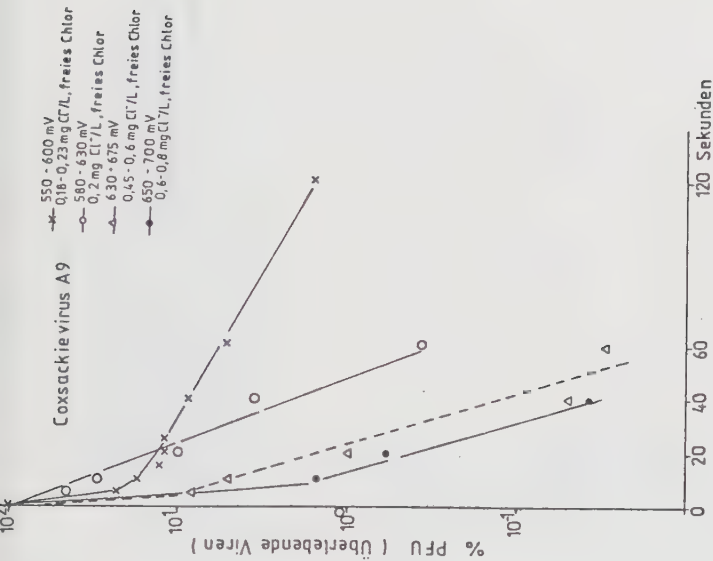


Abb. 7: Die Inaktivierung von Coxsackievirus A 9 durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentration an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C

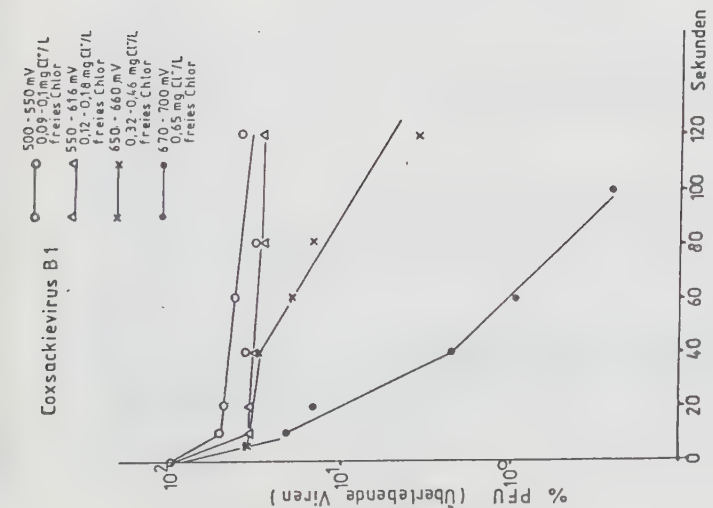


Abb. 6: Die Inaktivierung von Coxsackievirus B 1 durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentration an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C

Echovirus 7

○ 600-650 mV
0,12 mg Cl/L
freies Chlor
△ 650-700 mV
0,32 mg Cl/L
freies Chlor
× 100-150 mV
0,8 mg Cl/L
freies Chlor

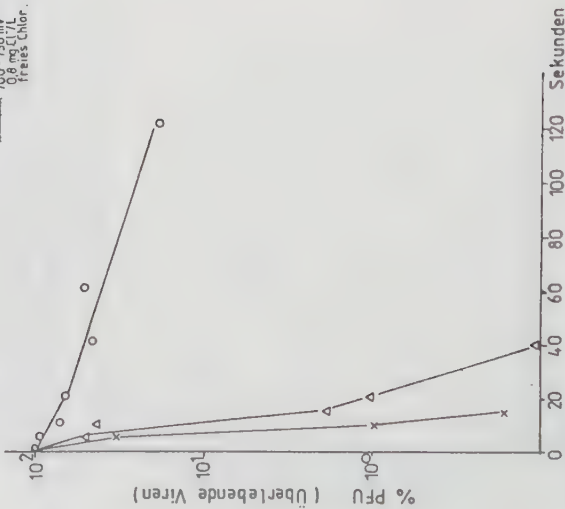


Abb. 8: Die Inaktivierung von Echovirus 7 durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C

Rotavirus SA 11

○ 550-600 mV
0,12 mg Cl/L
freies Chlor
△ 600-650 mV
0,22 mg Cl/L
freies Chlor
× 700 mV
0,46-0,5 mg Cl/L
freies Chlor

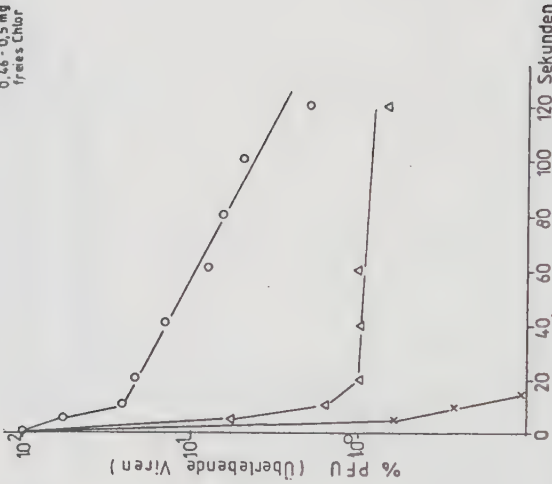


Abb. 9: Die Inaktivierung von Rotavirus SA 11 durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C

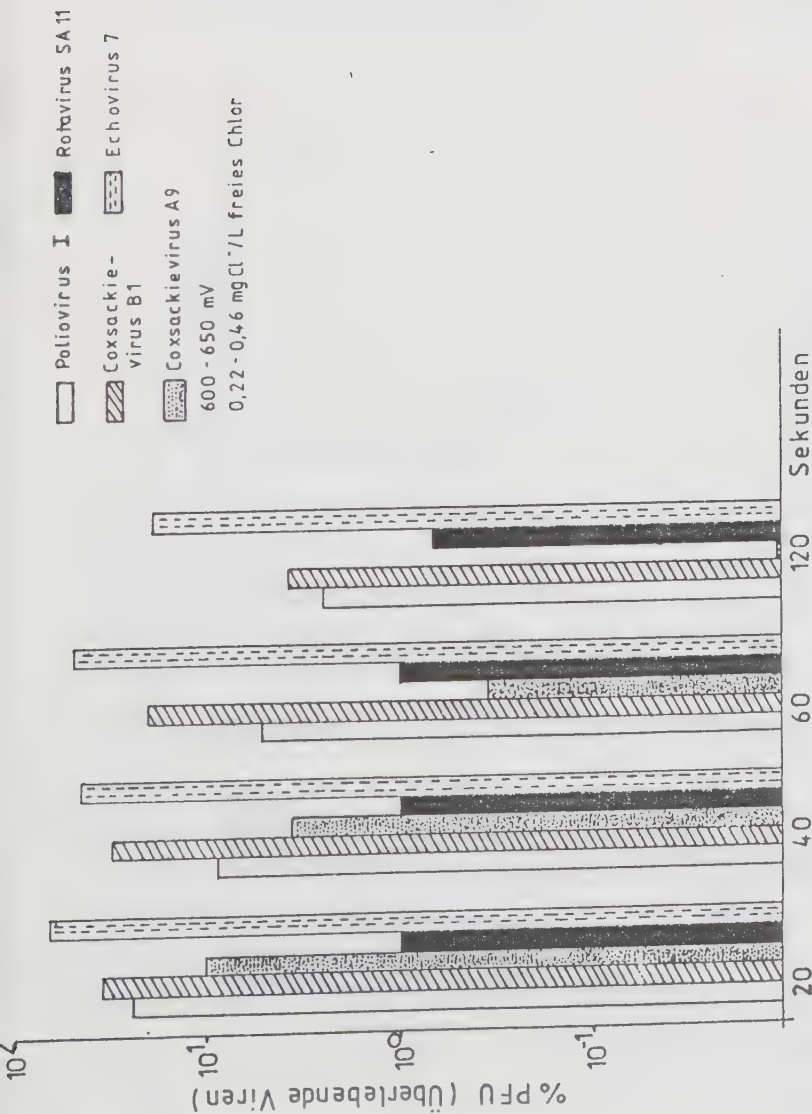


Abb. 10: Die Inaktivierung von Enteroviren durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren" (Säulendiagramm). Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C, 600 - 650 mV, 0,22 - 0,46 mg Cl⁻/l.

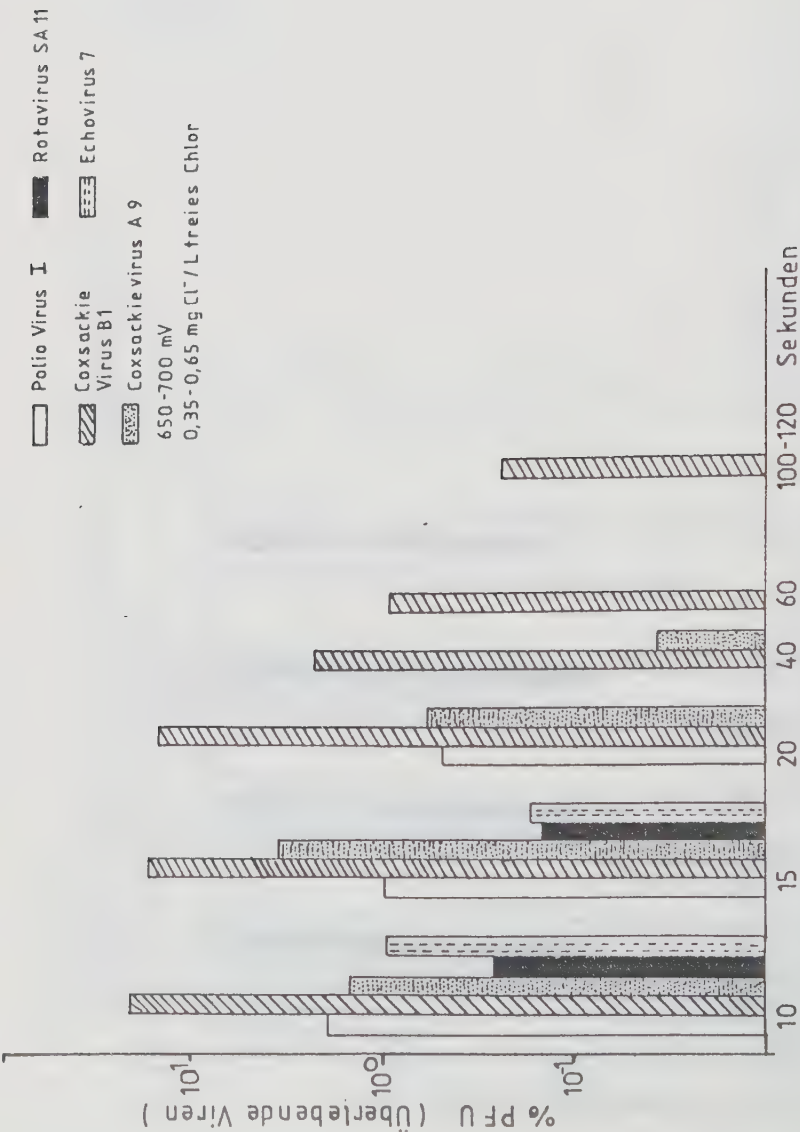


Abb. 11: Die Inaktivierung von Enteroviren durch Chlor in PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren" (Säulendiagramm). Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C, 650 - 700 mV, 0,35 - 0,65 mg Cl⁻/l

4.7.1 Inaktivierung des Poliovirus I in zwei unterschiedlich behandelten Abwasserproben (Abb. 12)

- In PBS-Lösung mit 0,5 mg Cl^- /l freiem Chlor, 670 - 700 mV
- In tertiär behandeltem Abwasser 0,6 - 0,8 mg Cl^- /l freiem Chlor, 580 - 624 mV
0,6 - 0,9 mg Cl^- /l freiem Chlor, 650 - 730 mV
- In sekundär behandeltem Abwasser 0,6 - 0,85 mg Cl^- /l freiem Chlor, 600 - 640 mV
0,8 - 1 mg Cl^- /l freiem Chlor, 650 - 725 mV

Es handelt sich um eine biologisch behandelte Abwasserprobe (sekundäre Behandlung) und eine weitergehend behandelte Abwasserprobe (tertiäre Behandlung). Die beiden Abwasserproben enthalten unterschiedliche organische Stoffe. Wir haben die beiden Proben im "Batchverfahren" gechlort und Poliovirus-Suspension hinzugefügt. Wir wollten hier die Effektivität der Abwasserchlorung in Anwesenheit bzw. Abwesenheit von organischem Material feststellen. Auffällig bei diesen Versuchen war, daß im Gegensatz zu den PBS-Versuchen für die totale Eliminierung der Viren ein höheres Redoxpotential bzw. eine höhere Chlorkonzentration benötigt wurde. Dies deutete auf eine höhere Chlorzehrung bzw. einen Oxydationsschutz des organischen Materials hin, der die Vireninaktivierungszeit verlängert.

Es ließ sich bei beiden Wasserproben trotz der Verwendung von 0,8 - 1 mg Cl^- /l (650 - 730 mV) eine Abtötung von 88,74% bei sekundär behandeltem Abwasser und 94,4% bei tertiär behandeltem Abwasser nach 2 min Kontaktzeit feststellen.

4.7.2 Die Inaktivierung des Poliovirus I bei Anwesenheit von E.Coli-Suspension (Abb. 13 u. 14)

Der Versuch wurde bei den folgenden Chlorkonzentrationen bzw. Redoxpotentialen durchgeführt:

0,18 - 0,2 mg Cl^-/l freies Chlor, 550 - 600 mV
0,25 - 0,3 mg Cl^-/l freies Chlor, 600 - 650 mV
0,35 mg Cl^-/l freies Chlor, 670 - 700 mV

Als erster Versuch wurde eine Mischung aus E.Coli-Suspension und Poliovirus I in PBS-Lösung gechlort. Es ließ sich feststellen, daß im Gegensatz zur Chlorung des Poliovirus in PBS höhere Redoxpotentiale und Chlorkonzentrationen für die totale Eliminierung der Viren benötigt werden. Die Ergebnisse lassen sich in Tabelle 1 zusammenfassen (s. Abb. 14 u. Tab. 1).

Nach der Tabelle ließ sich feststellen, daß Poliovirus I bei Anwesenheit von E.Coli-Suspension nach 60 sec Aktionszeit mit Chlor zu 79% und nach 120 sec zu 96,8% bei 0,3 mg Cl^-/l (600 - 665 mV) inaktiviert wurden. Dagegen wurde Poliovirus I in PBS-Lösung unter den gleichen Bedingungen nach 60 sec zu 94,7% und nach 120 sec zu 97,4% inaktiviert.

4.8 Bestimmung der Uraninkonzentration nach den verschiedenen Behandlungsstufen in der WAR-Anlage (Abb. 16)

Im Rahmen unserer Institutsforschung (Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene des Bundesgesundheitsamtes, Berlin-Dahlem) sollte die Effektivität der Abwasserreinigung des Klärwerks in Berlin-Ruhleben untersucht werden. Unsere Aufgabe bestand darin, zu untersuchen, inwieweit mit der WAR-Anlage Polioviren I bzw. Rotaviren SA 11 quantitativ beseitigt werden können.

Der erste Schritt der WAR-Anlage ist die Rohrflockung (s. Abb. 15). Hier wird das fließende Abwasser in ein Rohrflocker-Rohr eingelei-

tet. Das Wasser wird mit dem Flockungsmittel FeCl_3 gemischt und fließt in einen runden Behälter (4,8 m Durchmesser) mit einem inneren zentrischen Ring aus Leitblechen weiter. Durch diese Leitbleche wird die Fließrichtung des Wassers in die umgekehrte Richtung erzwungen, wodurch eine ungestörte Sedimentation der Hydroxidflocken erzielt wird.

Aus dem Absetzbecken fließt das Wasser über einen Schnellsandfilter, aus einer oberen Quarzsandschicht von 1 m Länge, bzw. einer unteren Hydroanthrazitschicht (0,5 m). Der Filter arbeitet mit einer Geschwindigkeit von 10 m/h. Vor der Filtration und nach der Rohrflockung wird das Wasser ozoniert. Ozon wird aus flüssiggelagertem Sauerstoff hergestellt. Der Sauerstoff wird elektrisch entladen, wobei 90 g Ozon pro m^3 Sauerstoff erzeugt werden können. Das Ozon-Sauerstoffgemisch wird unter Druck in einem Rohrreaktor mit dem Flockungswasser vermischt. Nach 2 min Wartezeit ist das gesamte Ozon verzehrt.

Es hat sich herausgestellt, daß durch die Flockungsstufe und Filtration nicht alle organischen Inhaltsstoffe des Abwassers beseitigt werden (Sarfert 1981). Durch die Ozonung werden diese Stoffe oxidiert und dadurch für Bodenmikroorganismen bei der Landbehandlung abbaubar gemacht.

Nach der Filtrationsstufe wird das Wasser über 8 km in das Infiltrationsgebiet transportiert, womit eine weitere Reinigung des Wassers erzielt werden kann.

Bei diesen Versuchen wollten wir durch die kontinuierliche Zugabe von Uranin in die WAR-Anlage den Verlauf der Uraninkonzentration nach den verschiedenen Behandlungsstufen bestimmen. Außerdem sollte der Verdünnungsfaktor des Uranins festgestellt werden, um die Möglichkeit der Durchführung von Virenversuchen in der Anlage festzustellen. Die Ergebnisse dieses Versuchs waren zufriedenstellend, so daß Virenversuche möglich waren. Wir haben eine Verdünnung des Uranins von 10^{-4} g/ml bestimmt, was auch bei den Virenversuchen einen akzeptablen Verdünnungsfaktor bedeutet.

mg Cl ⁻ /l	0,18		0,30		0,35	
Redoxpotential "mV"	550 - 600		650 - 665		700	
Zeit	x	xx	x	xx	x	xx
	% PFU		% PFU		% PFU	
60 s	30 %	24,8 %	5,3 %	21,1 %	0 %	3,17 %
120 s	15,7 %	18,5 %	2,6 %	3,17 %	0 %	0,14 %

x : Polio I in PBS-Lösung

xx : Polio I + E.Coli

Tab. 1: Prozent der überlebenden Polioviren (PFU/ml) nach der Behandlung mit Chlor bei Anwesenheit von E.Coli-Suspension

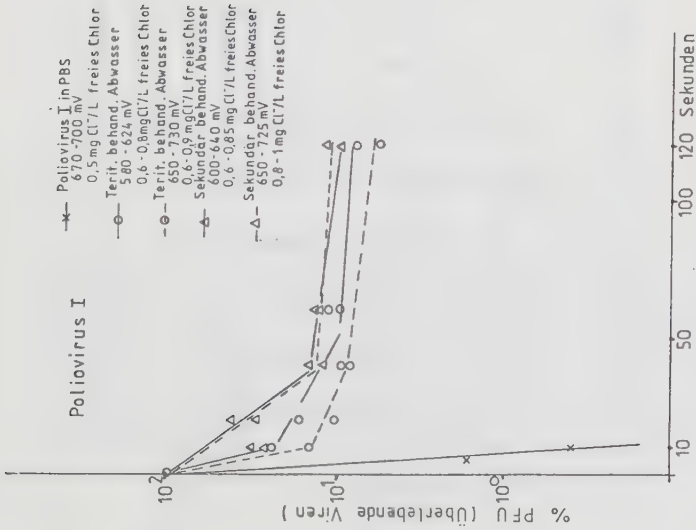


Abb. 12: Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor in zwei unterschiedlich behandelten Abwasserproben (sekundäre und tertiäre Behandlung) mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C

Poliovirus I • E.Coli

Legend:

- 550 - 600 mV freies Chlor (o)
- 0.18 - 0.2 mg Cl/L freies Chlor (o)
- 600 - 650 mV freies Chlor (Δ)
- 0.25 - 0.3 mg Cl/L freies Chlor (Δ)
- 670 - 700 mV freies Chlor (x)
- 0.35 mg Cl/L freies Chlor (x)

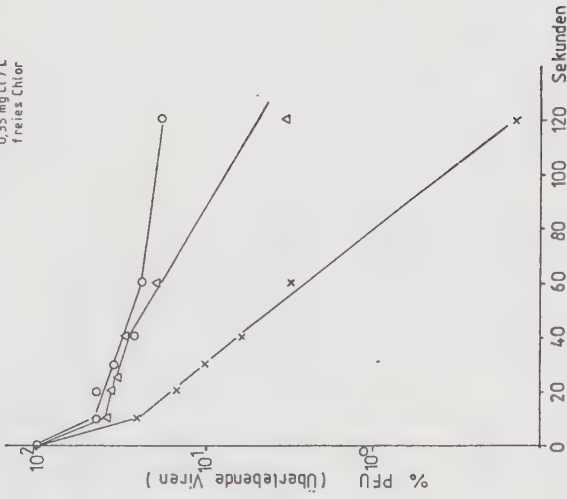


Abb. 13: Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor bei Anwesenheit von E.Coli-Suspension in einer PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren". Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentration an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C

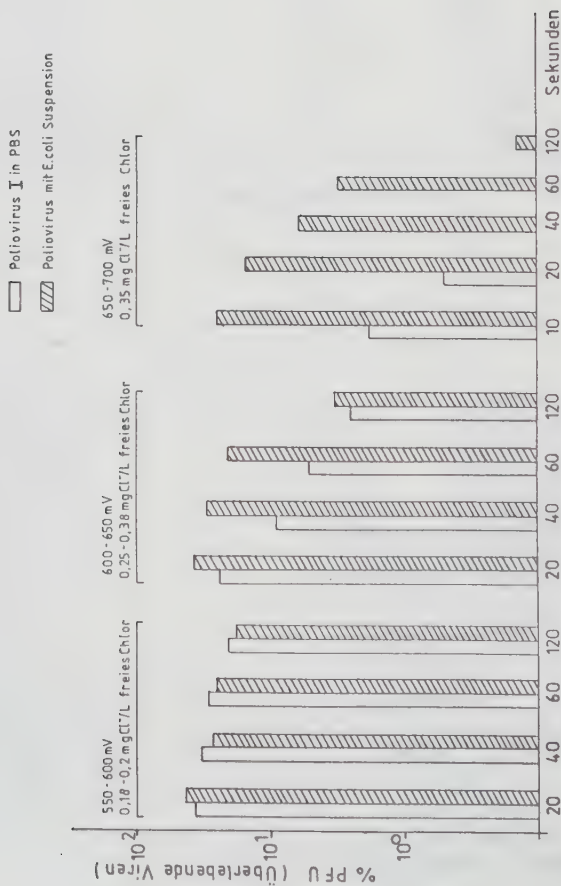


Abb. 14: Die Inaktivierung von Poliovirus I durch Chlor bei Anwesenheit von E.coli-Suspension in einer PBS-Lösung mit dem "Batchverfahren" (Säulendiagramm), Prozent der überlebenden Viren in Abhängigkeit von Redoxpotential, Konzentrationen an freiem Chlor und Zeit, pH 7,2, 25°C, 500 - 700 mV 0,18 - 0,38 mg Cl⁻/l.

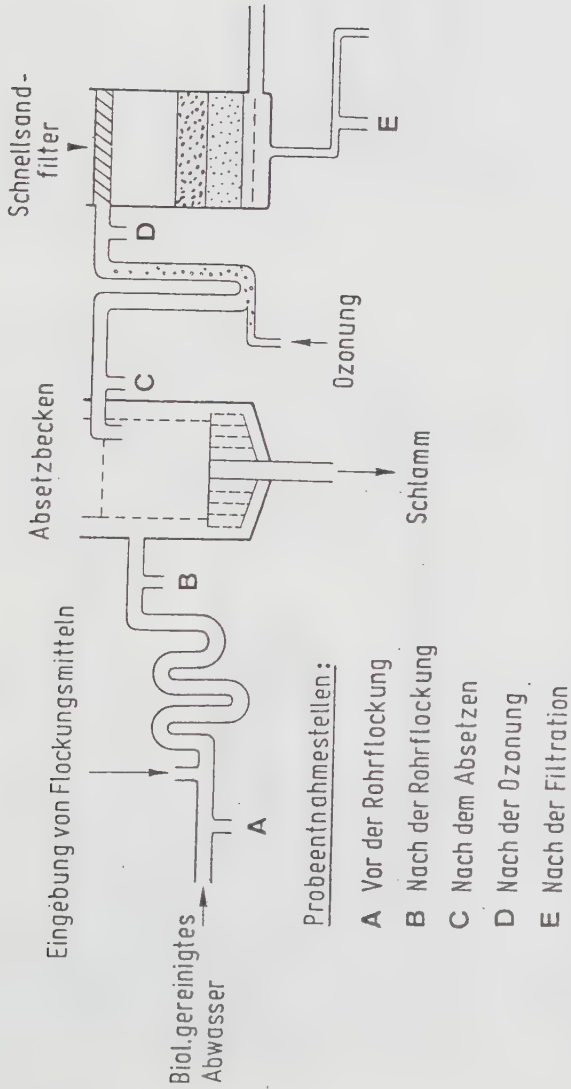


Abb. 15: Darstellung der WAR-Anlage des Klärwerks in Berlin-Ruhleben

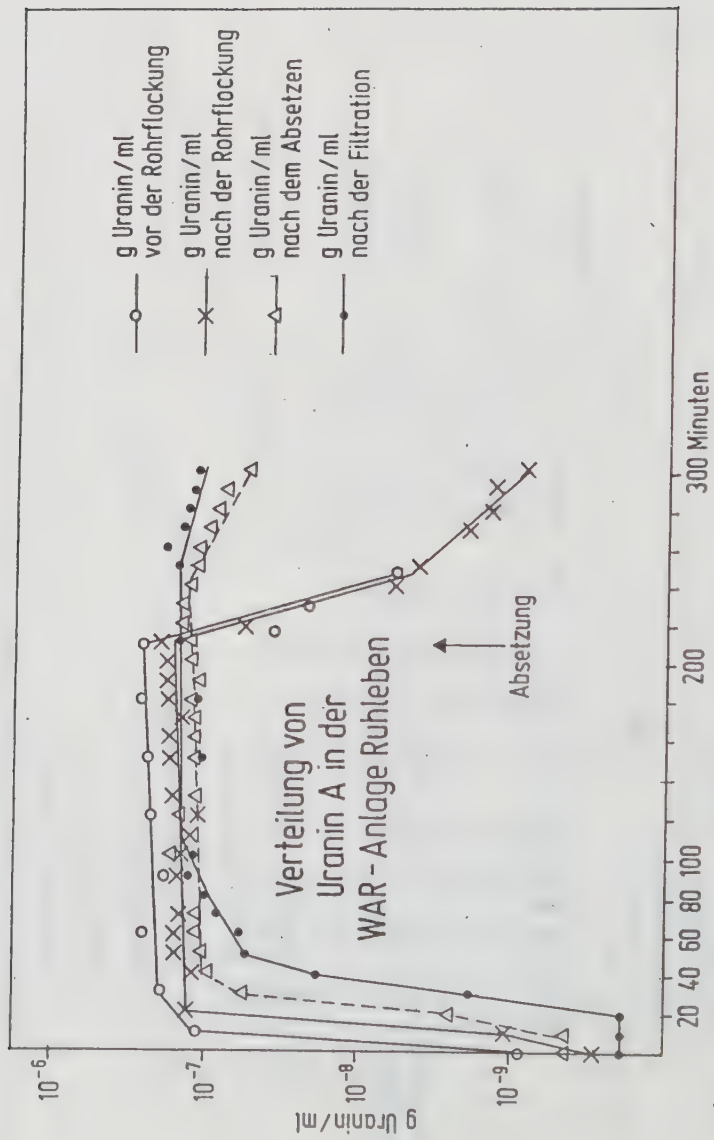


Abb. 16: Bestimmung der Konzentration an Uranin A in den verschiedenen Behandlungsstufen der WAR-Anlage.

4.9 Eliminierung des Poliovirus I nach den verschiedenen Behandlungsmethoden (Rohrflockung, Absetzen der Rohrflockung, Ozonung und Sandfiltration) der WAR-Anlage (Abb. 17, 18 u. 19)

Durch die Farbversuche konnte der Verdünnungsfaktor und damit der Verlauf einer Inaktivierungskurve eines Virus ermittelt werden. Deshalb wurden 5 Liter Poliovirus I + Farbstoff in die WAR-Anlage eingegeben und damit die Eliminierungsfähigkeit der Anlage getestet. Die Eliminierung der Viren nach der Flockung mit Eisen III Chlorid, nach dem Absetzen der Flocken im Absetzbecken, nach der Ozonung und nach der Filtration wurde untersucht.

Außerdem wurde bei diesem Versuch die quantitative Eliminierung der Viren festgestellt. Es ließ sich nachweisen, daß durch die Flockungsbehandlung 92,75% bis 96% des Poliovirus I eliminiert werden. Nach der Flockung und dem Absetzen wurden 95,08% - 97% der Viren eliminiert. Nach der Flockung, dem Absetzen und der Sandfiltration wurden 99,56% - 99,72% der Viren eliminiert. Durch das Einschalten des Ozons zu den anderen Behandlungsstufen wurde eine totale Eliminierung der Viren nachgewiesen.

4.10 Eliminierung des Poliovirus I in der WAR-Anlage nach der Ozonung (Abb. 20 u. 21)

In den letzten Jahren hat die Verwendung des Ozons als Desinfektionsmittel gegen pathogene Keime des Abwassers zugenommen. Ozon scheint, nach Literaturangaben, bei der Inaktivierung der Viren effektiver als Chlor zu sein (Katzenelson 1979).

Außerdem könnte durch die Verwendung von Ozon das Problem der Entstehung von karzinogenen Stoffen infolge der Reaktion des Chlors mit den Wasserinhaltsstoffen vermieden werden (Katzenelson 1974).

Bei diesen Versuchen sollte die Effektivität der Ozonbehandlung bei der Eliminierung des Poliovirus I bzw. Rotavirus SA 11 untersucht werden. Es wurden 1,5 Liter gezüchtete Polioviren I mit 2,5 Liter Uranin A mit der gleichen Endkonzentration wie beim vorigen Versuch zusammengemischt und mit Hilfe einer Dosierungspumpe in die Anlage gegeben (Durchflußgeschwindigkeit 1,5 l/h). Die Zugabe der Virus-suspension erfolgte in das Absetzbecken in der Anlage, damit keine Viren durch Flockung verloren gingen. Außerdem sollte die Ozonanlage ohne Flockung getestet werden. Der Versuch wurde 1 Stunde mit Ozon und 1 Stunde ohne Ozon durchgeführt. Proben wurden vor der Ozonung, nach der Ozonung, nach der Filtration ohne Ozon und nach der Filtration mit Ozon entnommen. Anschließend wurde der Plaques-Test, bzw. die Uraninbestimmung durchgeführt.

Es ließ sich feststellen, daß innerhalb einer halben Stunde die Ozonung des Abwassers eine Eliminierung des Poliovirus von 99,99% bewirkte. Wenn man dabei berücksichtigt, daß bei der Einschaltung der Ozonanlage 5 - 10 Minuten benötigt werden, bis das Ozon voll erzeugt wird, dann liegt die Abtötungszeit des Poliovirus unter einer halben Stunde. Nach der Sandfiltration ohne Ozon wurde Poliovirus I zu 88% bis 90% inaktiviert. Nach der Sandfiltration mit Ozon wurde eine Inaktivierung von 98% bis 99,5% erreicht.

4.11 Eliminierung des Poliovirus I in der WAR-Anlage nach der Entphosphatung (Abb.22 u. 23)

Die Phosphatanlage der WAR spielt eine wichtige Rolle bei der Entfernung des Phosphors aus gewerblichem bzw. häuslichem Abwasser. Phosphor kommt im Abwasser in anorganischer und organischer Form vor. Seine Entfernung aus dem Abwasser soll die Gefahr der Eutrophierung der Gewässer verringern.

Als Flockungsmittel wird Eisenoxid verwendet. Wir wollten bei diesem Versuch den Einfluß der Phosphatflockung auf die Eliminierung

der pathogenen Viren Polio I und Rota SA 11 untersuchen. Außerdem schien uns wichtig, die Effektivität der Phosphatanlage bei der Virenbeseitigung aus dem Abwasser zu bestimmen. Es wurden 2 Liter gezüchtete Polioviren I mit 2 Liter Uranin A ($2,5 \cdot 10^{-3}$ g/ml) gemischt und mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 2 l/h in die Anlage gepumpt.

Proben wurden nach dem vorletzten Reaktor II und dem letzten Reaktor I entnommen. Aus diesen beiden Reaktoren sollte die endgültige Beseitigung des Phosphats stattfinden. Anschließend wurden die Proben nach der Viren PFU/ml und der Uraninkonzentration bestimmt. Nach unseren Untersuchungen ließ sich feststellen, daß die Phosphatanlage fähig war, 91,4% - 94% Polioviren I zu eliminieren.

4.12 Die Eliminierung des Rotavirus SA 11 in die WAR-Anlage nach der Rohrflockung bzw. nach dem Absetzen der Rohrflockung (Abb. 24 u. 25)

In den U.S.A. wurden Untersuchungen durchgeführt, bei denen die starke Beteiligung des Rotavirus SA 11 an der Trinkwasserepidemie der akuten gastrointestinalen Krankheiten festgestellt wurde. Es wurden z.B. bei 4430 Fällen dieser Krankheit 1761 auf Rotavirus zurückgeführt (U.S.Dep. of Health and Human Services 1982).

Wegen dieser Gefahr der Kontamination des Trinkwassers mit Rotavirus erschien es uns notwendig, die Eliminierungsfähigkeit der WAR-Anlage für den Rotavirus zu bestimmen.

Nach diesen Untersuchungen wurden nach der Flockungsbehandlung und nach dem Absetzen der Rohrflockung 97 - 98,7% der Rotaviren eliminiert. Bei der Flockungsstufe allein wurde 77 - 80,5% Eliminierung der Viren festgestellt. Daraus läßt sich die Wichtigkeit des Absetzens der Rohrflockung bei der Vireneliminierung erklären. Die

Ergebnisse der Eliminierung des Poliovirus I nach der Flockung und dem Absetzen (95,08 - 97%), sind den Ergebnissen der Eliminierung des Rotavirus in etwa gleich.

4.13 Die Eliminierung des Rotavirus in der WAR-Anlage nach der Ozonung bzw. nach der Sandfiltration (Abb. 26 u. 27)

Es lassen sich hier ähnliche Ergebnisse wie bei Poliovirus I feststellen.

Die Ozonanlage wurde nach 40 min eingeschaltet. Ab diesem Zeitpunkt ließ sich der Abfall der überlebenden Rotaviren, die die Anlage passieren, beobachten. Nach etwa 20 min Ozonbehandlung ließen sich in den Proben überhaupt keine Viren nachweisen. Es wurde eine Eliminierung von 99,99% der Rotaviren durch die Ozonbehandlung erreicht.

Nach der Filtration mit Ozon wurden 95,2% der Rotaviren eliminiert, während nach der Filtration ohne Ozon nur 93% der Viren beseitigt werden konnten. Der geringere Effekt der Ozonwirkung auf die Vireneliminierung während der Sandfiltration kommt wahrscheinlich durch das Abwaschen der Viren auf dem Sandfilter zustande. Durch die Sandfiltration ohne Ozonung wurden 93,75 - 91,2% der Rotaviren eliminiert.

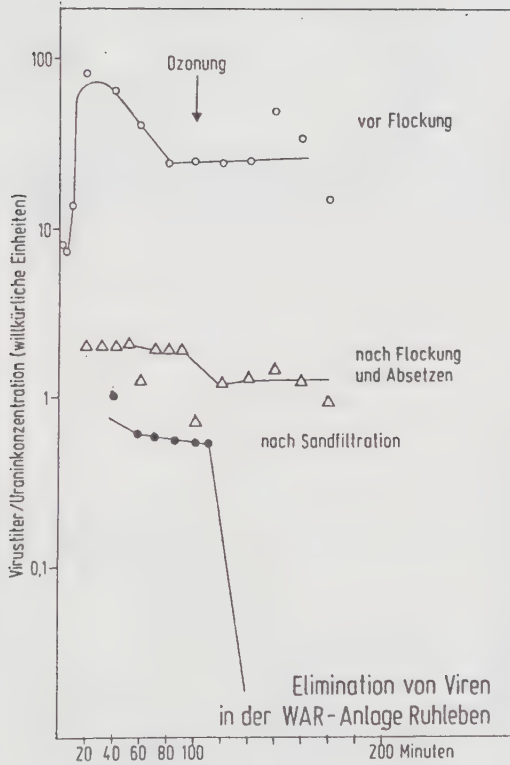


Abb. 17: Quantitative Eliminierung von Polioviren in der WAR-Anlage nach Flockung, Absetzung, Ozonung und Sandfiltration

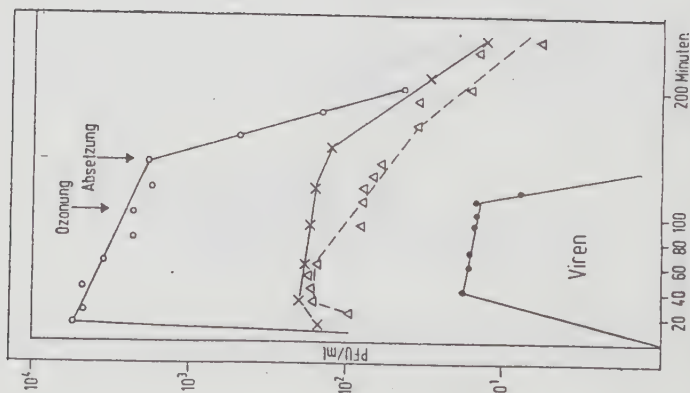


Abb. 18: Eliminierung von Polioviren in der WAR-Anlage nach Flockung, Absetzung, Ozonung und Sandfiltration

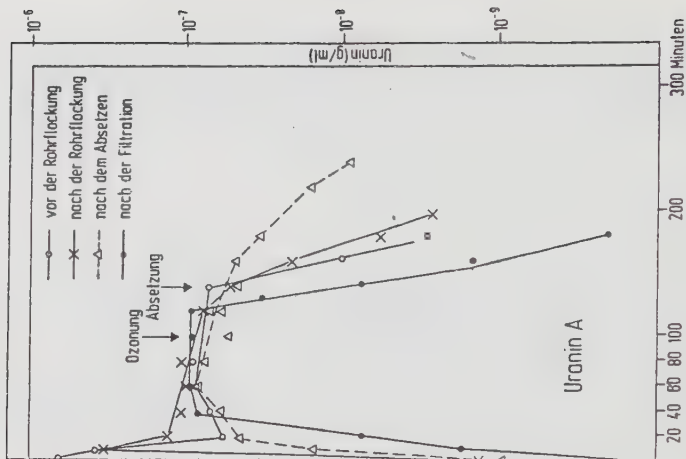


Abb. 19: Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Polioviren-Versuche nach Flockung, Absetzung, Ozonung und Sandfiltration

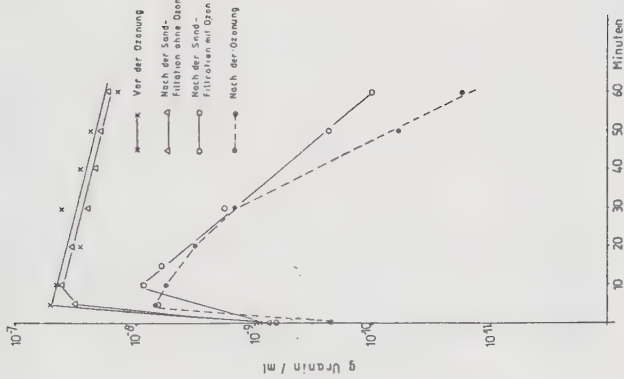


Abb. 21: Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Ozonung von Polioviren.

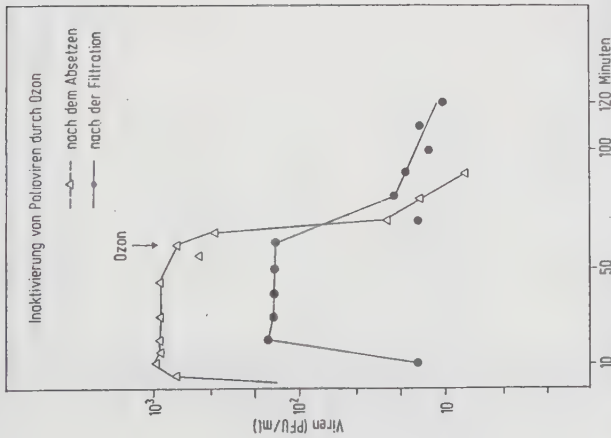


Abb. 20: Inaktivierung von Polioviren in der WAR-Anlage durch die Ozonung

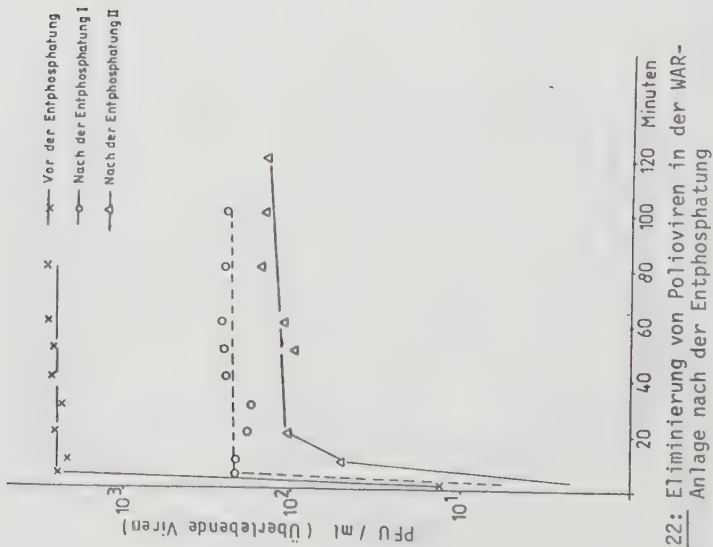


Abb. 22: Eliminierung von Polioviren in der WAR-Anlage nach der Entphosphatung

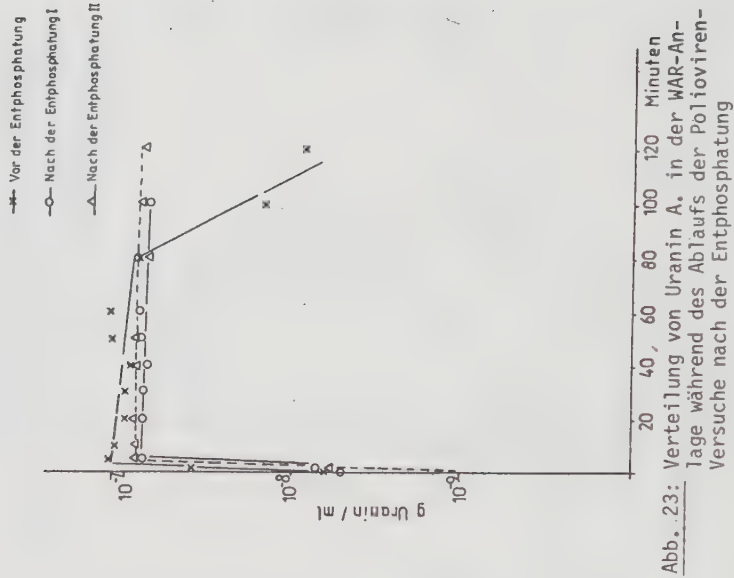


Abb. 23: Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Polioviren-Versuche nach der Entphosphatung

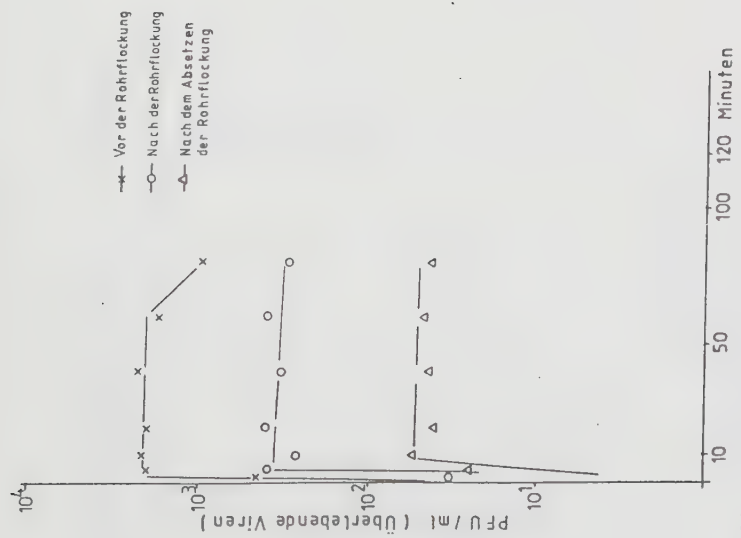


Abb. 24: Eliminierung von Rotaviren in der WAR-Anlage nach Flokkung, Absetzung und Sandfiltration

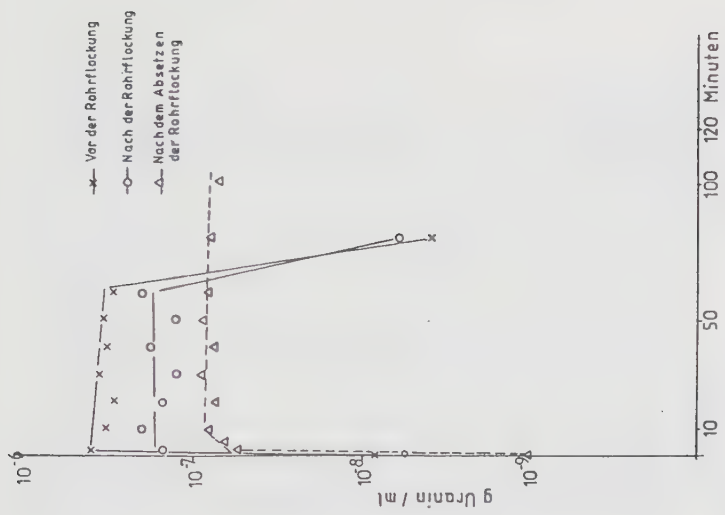


Abb. 25: Verteilung von Uranin A, in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Rotaviren-Versuche nach der Flokkung, Absetzung und Sandfiltration

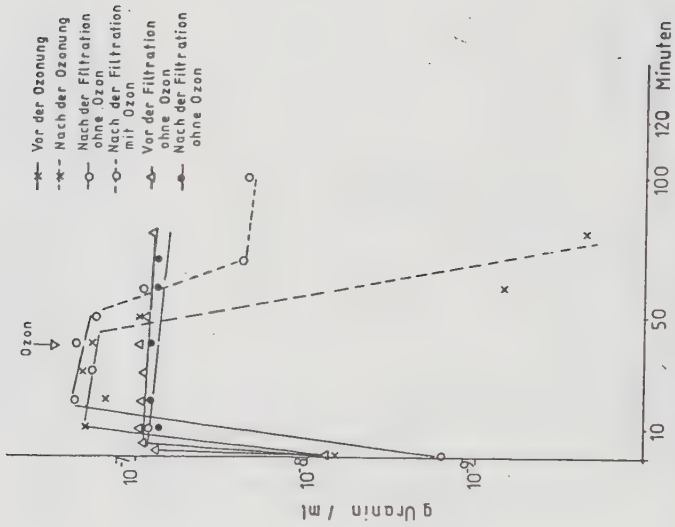


Abb. 27: Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Ozonung von Rotaviren

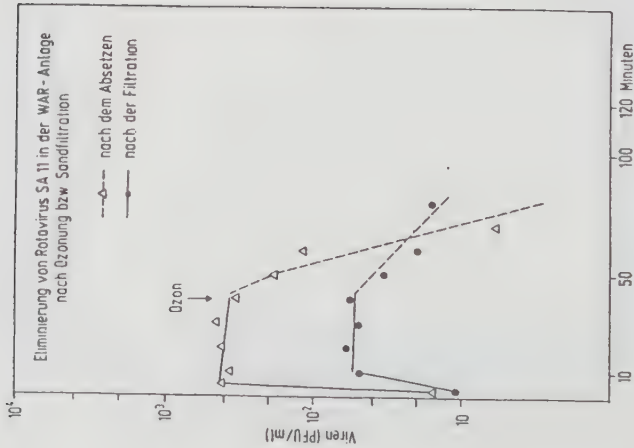


Abb. 26: Eliminierung von Rotaviren in der WAR-Anlage durch die Ozonung

4.14 Die Eliminierung des Rotavirus SA 11 in der WAR-Anlage nach der Entphosphatung (Abb. 28 u. 29)

Diese Versuche haben ergeben, daß die Phosphatanlage 92,3 - 94,2% Rotaviren eliminieren konnte.

Bei Poliovirus I wurde 91,4 - 94% Eliminierung durch die Phosphatflockung erreicht, also ähnlich wie beim Rotavirus.

Dieser höhere Eliminierungseffekt der Phosphatflockung bei der Beseitigung des Poliovirus I und des Rotavirus SA 11 deutet auf die Wichtigkeit der Phosphatanlage bei der Virenbeseitigung aus dem Abwasser hin.

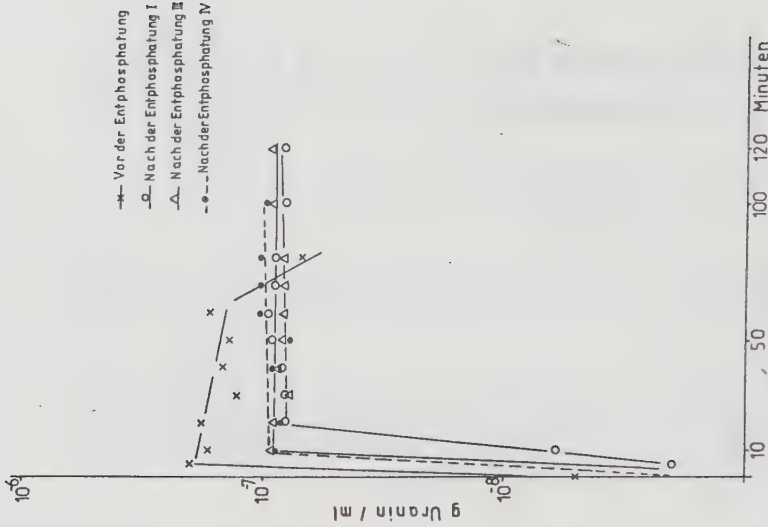


Abb. 29: Verteilung von Uranin A. in der WAR-Anlage während des Ablaufs der Rotaviren-Versuche nach der Entphosphatung

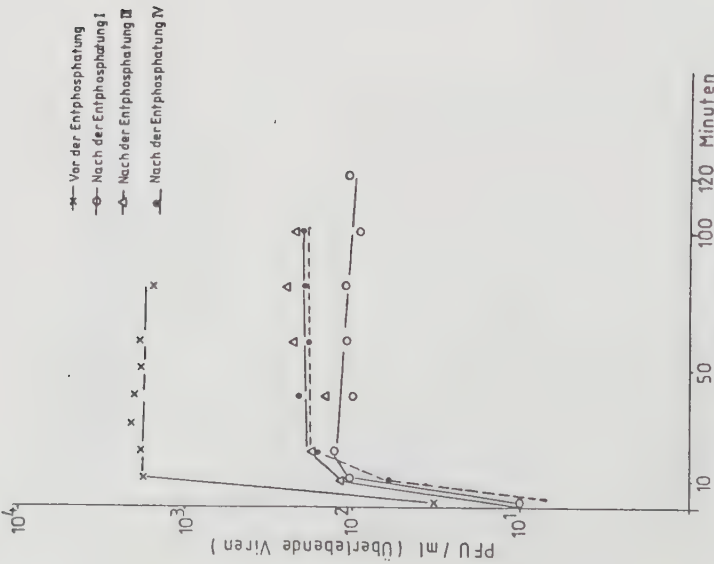


Abb. 28: Eliminierung von Rotaviren in der WAR-Anlage nach der Entphosphatung

5. DISKUSSION

Nach den bisherigen Kenntnissen der Reaktionskinetik der Enteroviren mit Chlor, scheint es unterschiedliche Hemmungsmechanismen des Chlors auf Viren zu geben.

Young 1977 stellte bei der Chlorung von Echovirus I ein kompliziertes Verhalten der Viren gegenüber Chlor fest. Schaffer 1980 berichten von einer Chlorresistenzfähigkeit der Polioviren, die sie aus behandeltem Abwasser isoliert haben. Peterson 1983 hat festgestellt, daß Hepatitisvirus A höhere Dosen von Chlor ($0,5 - 1 \text{ mg Cl}^-/\text{l}$) überleben kann.

Dieses Verhalten der Viren gegenüber Chlor scheint mit der Aggregatbildung der Viren zusammenzuhängen (Carlson 1975). D.h., wenn Viren im Wasser nicht einzeln vorkommen, werden sie gegen die Oxidationswirkung des Chlors geschützt und bleiben deshalb infektiösfähig.

Die organischen Inhaltsstoffe des Abwassers scheinen bei den Enteroviren einen ähnlichen Effekt zu bewirken. Diese Feststellung deutet auf die Schwierigkeit der Übertragung von Laborexperimenten zur Wasserdesinfektion auf Feldexperimente hin.

Nach unseren eigenen Versuchen wurde ebenfalls ein unterschiedliches Verhalten der Enteroviren gegenüber Chlor festgestellt (s. Abb. 10 und 11). Auffallend dabei ist die Ähnlichkeit der Inaktivierungskurven, die die verschiedenen Enteroviren bei $0,1 - 0,2 \text{ mg Cl}^-/\text{l}$, $550 - 600 \text{ mV}$ aufweisen. Hier findet die größte Inaktivierung der Viren in den ersten $10 - 15 \text{ sec}$ statt. In diesem Zeitraum verlaufen die Kurven linear (s. Abb. 4, 5, 6, 8 u. 10).

Dabei wurden sie zu $70 - 80\%$ inaktiviert. Mit zunehmender Reaktionszeit ist ein steilerer Verlauf der Kurven zu beobachten. Ausgenommen ist die Reaktion des Rotavirus und Coxsackievirus A9, die zu 98% inaktiviert wurden und einen absinkenden Verlauf ihrer In-

aktivierungszeit aufweisen (s. Abb. 7 und 9).

Bei höheren Chlorkonzentrationen bzw. Redoxpotentialen von 0,35 - 0,6 mg Cl^-/l , 650 - 700 mV, ist ein linearer Verlauf der Inaktivierungskurven der Viren festzustellen.

Eine 99,99%ige Inaktivierung wurde hier bei Poliovirus I nach 20 - 30 sec, bei Echovirus 7 nach 40 - 60 sec, bei Coxsackievirus BI nach 100 - 120 sec, bei Coxsackievirus A9 nach 80 - 100 sec und bei Rotavirus nach 15 - 20 sec festgestellt (s. Abb. 4, 5, 6, 7, 8, 9 u. 11).

Es scheint hier, daß Coxsackievirus BI und A9 eine längere Inaktivierungszeit benötigen als die anderen Enterovirentypen.

Diese Experimente wurden unter standardisierten Laborbedingungen durchgeführt. Wir haben mit gereinigter Virussuspension ohne Klumpen gearbeitet. Vor allem wurden die Versuche in PBS-Lösung durchgeführt, wodurch ein Einfluß von organischem Material auf die Vireninaktivierung bzw. auf die Chlorzehrung ausgeschlossen wurde.

Die Versuche zum Einfluß von organischen Inhaltsstoffen auf die Inaktivierung der Viren mit Chlor deuten auf eine höhere Chlordosis und ein höheres Redoxpotential bzw. eine längere Kontaktzeit für die 100%ige Keimabtötung der Viren hin.

Poliovirus I wurde in PBS-Lösung nach 60 sec mit 0,3 mg Cl^-/l , 600 - 650 mV zu 94% inaktiviert, während bei der Anwesenheit von E.Coli-Bakterien unter den gleichen Bedingungen nur 79% der Polioviren inaktiviert werden konnten (s. Abb. 13 und 14).

Bei der Chlorung von sekundär bzw. tertiär behandeltem Abwasser wurde nach 2 min Reaktionszeit mit 0,8 - 1 mg Cl^-/l , 650 - 730 mV, 80 - 94% Inaktivierung der Polioviren erreicht (s. Abb.12).

Zusammenfassend läßt sich aussagen, daß bei der Chlorung von Viren in Wasser 0,35 - 0,5 mg Cl^-/l , Redoxpotential von 650 - 700 mV, für

die 100%ige Keimabtötung bei mindestens 2 min Reaktionszeit benötigt werden. Dies gilt nur, wenn das Wasser von organischem Material frei ist und wenn die Viren im Wasser einzeln vorliegen.

In der Praxis der Abwasserreinigung werden diese Bedingungen nicht eingehalten. D.h., daß das Abwasser nicht von organischem Material frei wird. Außerdem kommen darin Viren sehr häufig in Form von Aggregaten vor.

Aus diesem Grunde ist anzunehmen, daß bei der heutigen Praxis der Wasserchlorung eine höhere Chlorkonzentration für die totale Eliminierung von pathogenen Keimen benötigt werden.

Bekannt ist, daß höhere Chlorkonzentrationen gesundheitsschädlich sind. Außerdem könnten organische Chlorverbindungen wie Trichlorhalogene und Chloramine, die mutagene Wirkungen haben, vorkommen.

Aus diesem Grund erschien uns die Erprobung von anderen Abwasserbehandlungsverfahren, die geringere toxische Nebenwirkungen im Trinkwasser hervorrufen können, wie Flockung, Absetzung, Ozonung, Sandfiltration und Entphosphatung, wichtig zu sein. Dafür führten wir eine Reihe von Feldversuchen in der WAR-Anlage des Klärwerks in Berlin-Ruhleben durch.

Aus Abb. 18 und 19 ist zu ersehen, daß bereits nach Flockung und nach Absetzen der Flocken im Sedimentationsbecken die Menge der Viren um den Faktor zehn abgenommen hat. Nach der Schnellsandfiltration nehmen die Viren erneut ca. um den Faktor zwei ab. Wenn die Ozonung eingeschaltet wird, sind die Viren nach dem Sandfilter nicht mehr nachweisbar. Die in der Abb. 18 angegebenen Werte geben das Verhältnis der gefundenen Viren zur Konzentration des in der gleichen Probe enthaltenen Uranins wieder. Die absoluten Werte der Viren und des Uranins können aus Abb. 17 ersehen werden.

Nach der Reduzierung der Virenkonzentration nach Flockung, Sedimentation und Sandfiltration war sie auf ca. 10 - 20 Viren/ml abgesunken.

Nach der Ozonung waren Viren nicht mehr nachweisbar. Jedoch erlaubt die niedrige Konzentration von Viren nicht, einen exakten Wert über die weitere (durch die Ozonung stattgefundene) Reduktion anzugeben, da das von uns angewandte Verfahren nicht in der Lage ist, weniger als 5 Viren/ml nachzuweisen.

Aus diesen Gründen führten wir den in Abb. 20 dargestellten Versuch durch. Bei ausgeschalteter Ozonungsanlage wurden Viren nach dem Absetzbecken direkt hinzugefügt und die Virenkonzentration jenseits des Ozonungsbehälters und des Sandfilters bestimmt. Die Ozonung wurde dann eingeschaltet und die Konzentration erneut gemessen. In den Proben hinter dem Ozonungsbehälter waren wiederum nach ca. 20-30 min keine Viren nachweisbar. Diese Ergebnisse lassen auf mindestens eine 100fache Inaktivierung durch die Ozonbehandlung schließen. Daß nach dem Sandfilter, immer - auch nach Ozonung - eine geringe Menge Viren nachweisbar waren, ist nicht überraschend. Es ist damit zu rechnen, daß Viren, die vor der Ozonung an Sandpartikeln adsorbiert waren, langsam wieder abgegeben werden.

Ähnliche Ergebnisse wie eben beschrieben erhält man, wenn man die Versuche mit Rotaviren SA 11 anstatt mit Polioviren durchführt. In den Abb. 24 und 26 werden solche Versuche dargestellt. Auch hier beobachtet man eine ähnlich starke Elimination wie bei Polioviren und ein "Nachsickern" von Viren aus dem Sandfilter (Abb. 26).

Aufgrund früherer Untersuchungen am Klärwerk Ruhleben kann man davon ausgehen, daß sich in dem biologisch geklärten Abwasser, das das Klärwerk verläßt, ca. 1000 pathogene Viren in einem Liter befinden. Diese Zahl ist eine Abschätzung aller enthaltenen Viren anhand der mit unseren Methoden tatsächlich nachweisbaren Viren.

In der nachfolgenden Tabelle 2, die unmittelbar aus unseren Ergebnissen mit Polio- und Rotaviren hervorgegangen ist, kann man direkt ersehen, welcher Prozentsatz dieser Viren in den einzelnen Aufbereitungsschritten eliminiert wird.

	Aktive Viren (%)	
	Rota SA 11	Polio I (Impfstamm)
Einlaß	100	100
nach Flockung	5 - 10	5
nach Sandfiltration	0,5	1
nach Ozonung	weniger als 0,005	weniger als 0,01

Tab. 2

Nach Tab. 2 kann man davon ausgehen, daß weniger als 0,01% der ursprünglich enthaltenen Viren nach der WAR-Behandlung übrig geblieben sind; das bedeutet, weniger als 1 Virion in zehn Litern. Man kann sicherlich davon ausgehen, daß viele Oberflächengewässer, die heute als Quelle für Rohwasser dienen, einen höheren Virengehalt aufweisen. Demnach produziert die WAR ein Wasser, dessen virologische Qualität der vieler Rohwasser überlegen ist.

Nicht nur vom Standpunkt der Trinkwassergewinnung ist die Eliminierung von Viren von Bedeutung. Eine große Anzahl der Binnengewässer, die als Bade- und Erholungsgewässer dienen, sind gleichzeitig Vorfluter von Kläranlagen. Das Problem der Eutrophierung dieser Gewässer ist hinlänglich bekannt; daher ist die Errichtung von "Entphosphatungsanlagen" ein aktuelles Thema. Mehr und mehr solcher Anlagen werden erprobt und aufgebaut, oder sind geplant oder im Gespräch.

Vom Standpunkt der Seuchenhygiene ist es wichtig zu wissen, inwieweit die Entphosphatung auch Krankheitserreger eliminiert. Wir haben in der Pilotanlage zur Entphosphatung in Ruhleben die Elimination von Polioviren und Rotaviren gemessen. In den Abb. 22 und 28 sind die Ergebnisse aufgetragen. Obereinstimmend findet man in beiden Fällen, daß der Titer in dem Ausfluß aus dem ersten Reaktor ca.

ein Zehntel desjenigen vor der Entphosphatung beträgt. (Der Durchfluß des Wassers durch weitere Reaktoren bringt seltsamerweise keine weitere nennenswerte Elimination.)

Die Ergebnisse bei der Entphosphatung lassen hoffen, daß die Entphosphatung als Nebeneffekt eine wesentliche Verbesserung der seuchenhygienischen Qualität von Binnengewässern mit sich bringen könnte. Dieses würde den Erholungswert dieser Gewässer erheblich steigern.

Für die Verursachung einer viralen Erkrankung ist im allgemeinen eine kleinere Dosis von Erregern notwendig als für eine bakterielle Infektion. Daher ist es von Bedeutung zu wissen, was aus den Viren wird, die in geringer Anzahl die Anlage verlassen, oder nach Passieren einer defekt gewordenen Anlage das Infiltrationsfeld in größerer Anzahl erreichen könnten.

Die Bindung von Viren an Sand oder an andere Bodenpartikel ist reversibel. Abhängig von zahlreichen Randbedingungen (pH, Ionenstärke, Durchflußgeschwindigkeit des Wassers etc.) werden einmal adsorbierte Viren mehr oder weniger bereitwillig wieder abgegeben. Theoretisch ist es also möglich, daß Viren eine gewisse Entfernung zurücklegen, obwohl die Bodenschichten kompakt sind. Aus diesem Grund ist es wichtig zu wissen, wie lange Viren im Wasser und im Boden aktiv bleiben: wenn die zum Transport benötigte Zeit gegenüber der Inaktivierungszeit lang ist, dann wird die Gefahr eines Austrags gering sein. Wenn, demgegenüber, die zur Inaktivierung erforderliche Zeit größer ist als die Transportzeit, dann muß man mit einem Virusdurchbruch rechnen.

In unserem Institut wurden im Rahmen einer Dissertation (Nasser, A. 1984) eine Reihe von Überlebensversuchen von Viren gemacht. Diese Versuche wurden am Beispiel von Glassandsäulen im Labor durchgeführt.

Wenn man die Ergebnisse dieser Säulenversuche auf die Zustände bei der Infiltration extrapoliert, dann kommt man zu der Schlußfolgerung, daß mitinfiltrierte Viren - eine Abstandsgeschwindigkeit des Wassers

von weniger als 5 m/d vorausgesetzt - Jahre brauchen würden, um eine Entfernung von z.B. 100 m zurückzulegen. Diese Zeit genügt, um eine ausreichende Inaktivierung zu erzielen. Tatsächlich war von fünf Proben à 100 l Probenvolumen, die ca. 15 m von der Infiltrationsstelle entnommen wurden, keine einzige positiv.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die WAR in der Lage ist, mehr als 99,99% der ihr mit dem Abwasser zugeführten menschenpathogenen Viren zu eliminieren (in der berechtigten Annahme, daß Polio- und Rotaviren für im Abwasser vorkommende Viren repräsentativ sind). Der größte Teil des Eliminationsvermögens wird von der Ozonung bewirkt, jedoch ist die Flockung-Sedimentation-Schnellsandfiltration für sich in der Lage, ca. 95 - 99% der Viren zu eliminieren. Bei der Entphosphatung wird die Virenanzahl um einen Faktor von zehn erniedrigt. Das Verfahren verspricht, in seuchenhygienischer Hinsicht die Qualität der Oberflächengewässer erheblich zu verbessern.

Es läßt sich ebenfalls nach den bisherigen Versuchen ein Vergleich zwischen den verschiedenen Abwasserbehandlungsmethoden wie Chlorung, Ozonung, Flockung, Sandfiltration und Entphosphatung durchführen. Am effektivsten scheint die Ozonung zu sein. Da Ozon eine stark viruzide Wirkung auf pathogene Keime im Wasser ausübt und die mutagener Wasserinhaltsstoffe in geringerem Umfang im Gegensatz zu Chlor fördert, wird es als Desinfektionsmittel bei der Trinkwasserherstellung eine wichtige Rolle spielen.

6 LITERATURVERZEICHNIS

Amer. Public Health Assoc.:

Standard method for the examination of water and waste water,
13 thed., ed. American Public Health association, New York, 1971

Babiuk, L.A., K. Mohammed, L. Spenece, M. Fauvel and R. Petro:

Rotavirus isolation and kultivation in the presence of Trypsin.
J. Clin. Microbiol. vol. 6, no. 6, p. 610 - 617, Dez. 1977

Bagdasarjan, G.A.:

Z. Mikrobiol. (Mosk), 47(8), 1970

Bagdasaryan, G.A.:

Survival of viruses of the enteroviruses group. (Poliomyelitis,
Echo., Coxsackie) in soil and in vegetables. J. Hyg. Epidemiol.
Mikrobiol. Immunol. 7, 497, 1964

Bellar, T.A., J.J. Lichtenberg and R.C. Kroner:

The occurance of organoholides in chlorinated drinking water.
J. AWWA, p. 703, 1974

Bendinelli, M. et.al.:

Riv. ital. igiena 27, 198, 1976

Berg, G.:

Arch. Hyg. Bakt. 49, 1965

Berg, G.:

Removal of viruses from sewage, effluents and water. Bull.
mond. sant. Bull. wld. hlth. org. 49, p. 455 - 460, 1973

Berg, G.:

J. San. Eng. Dev. ASCE, 97: 867, 1971

Bitton, G.:

Introduction to Environmental Virology. John Wiley & Sons 1980

Bloom, H.H. et.al.:

J. inf. dis. 105 (61), 1959

Bonin, O.:

Quantitative virologische Methodik. Georg Thieme Verlag. Stuttgart. 1973

Bossart, J.M., J.J. McCreary:

Wastewater treatment desinfektion, J.WPCF. vol. 55, no. 6, p. 650, 1983

Brunner, D.R. and Sproul, O.J.:

J. San. Eng. Div. ASCE, 96: 365, 1970

Bull, R.J.:

Toxicological problems associated with alternative methods of desinfektion. J.AWWA., Research and Technology, Dez. 1982

Burleson, G.R. and Chambers, T.M.:

Effect of ozonation on the mutagenicity of carcinogens in aqueous solution. Environ. mutagen. 4:469, 1972

Carlson, S., T. Kempf and K. Körtüm:

Eindringtiefe von Phagen u. Viren in verschiedenen Bodenarten unter dem Einfluß anionischen Tenside bei der Grundwasseranreicherung. 13. Tagung der österr. Ges. f. Hygiene, Mikrobiologie und Präventiv Medizin 2 - 4, Mai 1972

Carlson, S.:

Zbl. Bakt. I Abt. Orig. 212: 50: 1969

Carlson, S., U. Hässelbarth and R. Langer:

Abtötung aggrigierter Keime bei der Wasserdesinfektion durch

Chlor. Zbl. Bakt. Hyg. org. B. 161, 233 - 247, 1975

Carlson, S., U. Hässelbarth und P. Mecke.:

Die Erfassung der desinfizierenden Wirkung gechlorter Schwimmbadwässer durch die Bestimmung des Redoxpotentials. Arch. Hyg. 152/4/, 306 - 320, 1968

Carlson, S.:

Das Redoxmilieu als Faktor der Keimabtötung. Sonderdruck aus "Bundesgesundheitsblatt" 12. Jahrg. Nr. 17, 266 - 274, Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York. 1969

Carlson, S., U. Hässelbarth und F.W. Sohn:

Untersuchungen über Virusinaktivierung durch Chlor bei der Was-serdesinfektion. Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. orig. B 162, 320 - 329, 1976

Celma, M.L. and E. Ehrenfeld:

Effect of Poliovirus double-stranded RNA on viral and host-cell protein synthesis. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, vol 71, No. 6, 2440 - 2444, June 1974

Chairman, J.D.:

Safe drinking water comittee. Drinking and water health. National Academy Press, Washington, D.C. 1980

Chang, S.L. et.al.:

Amer. J. Publ. Hlth., 48: 159, 1958

Chaudhuri, M. and R.S. Engelbrecht:

J. Amer. Water Works Assoc., 62: 563, 1970

Clarke, N.A. and P.W. Kabler:

Amer. J. Hyg., 59: 119, 1954

Clarke, N.A., et.al.:

J. Amer. Wa. Work. Assoc. 48: 677, 1956

Cramer, N.W., Kazuyoshi Kawata and C.W. Kruse:

Chlorination and iodination of Poliovirus and f₂. Journal WPCF
Vol. 48, No.1., 1976

Drewry, W.A. and R.J. Eliassen:

Virus movement in groundwater. J. Water Poll. Cont. Fed. 40,
257, 1968

Dufour, A.P. and W. Jakubowski:

Drinking water and legionnaires disease. J. AWWA. Dez. 1982

Du Boise, S.M. et.al.:

Virus in soil systems. Crit. Rev. Microbiology, 7, 245, 1979

Elmer, J.R., W. Akin:

Proc. 13th Wat. Qual. Confr. Univ. Illinois Urbane, p. 59,
1971

England, B. et.al. in Berg, G. ed.:

Transmission of virus by the water route. New York, John Wiley,
p. 401, 1976

England, B.:

Protamin sulfate precipitation of reovirus and adenovirus for
their assay in sewage and effluents Bact. Proc. 194, 1974

Floyd, J.D.J. and D.E. Sharp:

Appl. Environm. Microbiol. Vol. 31, 298 - 303, 1976

Gärtner, H.:

Retention and recovery of Polioviruses in a soluble ultrafilter:
In transmission of virus by the water route. Ed. by Berg
G. Interscience, New York, 1967

Gerba, C.P. et.al.:

Wastewater renovation and reuse. Virus removal by soil filtration. Science vol. 192, 1976

Gerba, C.P. and S.M. Goyeil:

Methods in Environmental Virology. Marcel Dekker, Inc. 1982

Gilbert, R.G., C.P. Gerba, R.C. Rice, H. Bouwer, C. Wallis and J.L.

Melnick: Virus and Bacterial revomal from wastewater by land treatment. Appl. Environ. Microbiol. vol. 32, No. 3, 1976

Gilcreas, F.W. and S.M. Kelly:

J. Amer. Water Works Assoc., 47: 683, 1955

Grinstein, S., J.L. Melnick, C. Wallis:

Virus isolation from sewage and from a stream receiving effluents of sewage treatment plants. Bull. Wld. Hlth. Org. 42, 291 - 296, 1970

Hässelbarth, U.:

Bestimmung von freiem und gebundenem wirksamem Chlor. Z. analyt. Chem. 234, 22 - 37, 1968

Hamilton, J.R. et.al.:

Recent development in viral gastroenteritis. Symposium on gastrointestinal and liver desease. Pediatrik clinics of North America, vol. 22, No. 4, Nov. 1975

Hejkal, T.W., F.M. Wellings, P.A. Larock and A.L. Lewis:

Survival of poliovirus within organic solids during chlorination. Appl. Environm. Microbiol., vol. 38, no. 1, p. 114 - 118, July 1979

Henneberg, G.:

Virusbedingte Darminfektion. Münch. Med. Wschr. 109, 2053 - 2057, 1967

Hill, W.F., J.R. Elmer, W. Akin, W.H. Benton and T.G. Metcalf:

Virus in water II. Evaluation of membran cartridge filters for recovering low multiplicities of poliovirus from water. Appl. Microbiol. p. 880 - 888, May 1972

Hill, W.F., J.R. Elmer, W. Akin and W.H. Benton:

Detection of viruses in water: A review of methods and application, vol. 5, p. 967 - 995, Water Res. Pergamon Press. Printed in Great Britain 1971

IAWPRC:

Study group on water virology. The health significance of virus in water. Water Res. vol. 17, p. 121 - 132, 1983

Jawetz, E., J.L. Melnick, E.A. Adelberg:

Medizinische Mikrobiologie. Springer Verlag Berlin - Heidelberg - New York, 1980

Jensen, H., T. Kent and D.G. Sharp:

Inactivation of Coxsackievirus B III and B V in water by chlorine. Appl. Environm. Microbiol. p. 633, Sep. 1980

Johnson, J.D.:

Disinfection water and wastewater. Ann Arbor Science Publishers Inc. Ann Arbor Michingen 1975

Käss, W.:

Die Bestimmung von Uranin-Spuren bei Färbversuchen. Sterische Beiträge zur Hydrogeologie 1963/1964

Katzenelson, E., B. Kletter and H.I. Shuval:

Inactivation kinetics of viruses and bacteria in water by use of ozone. p. 726, JAWWA, no. 66, 1974

Katzenelson, E., G. Koerner, N. Biedermann, M. Peleg and H.I. Shuval:

Measurement of the inactivation kinetics of poliovirus by ozone

in a fast-flow mixer. Appl. Environm. Microbiol., vol. 37, no. 4,
p. 715 - 718, Apr. 1979

Kolbestes, M., D.Y. Graham, E.M. Smith and C.P. Gerba:
Rotavirus stability and inactivation. J. gen. virol. 43,
403 - 409, 1979

Kowbel, D.J., et.al.:
Determination of mutagenic activity in salmonella of residual
fulvic acids after ozonation. Water Res., 16, 1537, 1982

Liebscher, S.:
Enteroviren im Schwimmbadwasser. Z. ges. Hyg. 16, 1 - 6, 1970

Logsdon, G.S. and E.C. Lippy:
The role of filtration in preventing waterborne disease. JAWWA,
vol. 74, no. 12, 1982

Lothrop, T.L. and O.J. Sproul:
J. Wat. Poll. Cont. Fed., 41: 567, 1969

Lund, E. and Ronne:
Isolation of viruses from sewage treatment plant sludges. Water
Res., 7, 863, 1973

Lund, E.:
Oxydative inactivation of poliovirus. Aarhus Siftsbogtrykkerie,
Copenhagen 1963

Lund, E.:
Die Inaktivierung der Enteroviren. Schr.Reihe Ver. Wass. Boden-
Lufthyg. Berlin-Dahlem, H. 31 Stuttgart, 1970

Mack, W.N., et.al.:
J. Wat. Poll. Cont. Fed. 34: 1133, 1962

Mahdy, M.S.:

Virus in the water environment an understood problem.
JAWWA, August 1979

Maramorosch, K., H. Koprowski:

Methods in Virology. vol. I - III, Academic Press, New York -
London, 1977

Martz, G.:

Siedlungswasserbau Teil 3: Klärtechnik. Werner Ingenieur Texte,
19, 1981

Matsuno Shigeo and Atsushi Mukoyama:

Polypeptides of bovine rotavirus. J. gen. virol. 43, 309 - 316,
1979

Mauersberger, B.:

Aktuelle Probleme der Zellzüchtung. Gustav Fischer Verlag, 1971

Mayr, A., P.A. Bachmann, B. Bibrack und G. Wittmann:

Virologische Arbeitsmethoden. Bd.1. VEB. Gustav Fischer Verlag
1974

McDermoth, J.H.:

Proc. 13th Wat. Qual. Conf. Univ. Illinois Urbane, p. 211, 1971

McNulty, M.S.:

Rotavirus, review article. J. gen. virol. 40, 1 - 18, 1978

Melnick, J.L.:

Enteroviren by viral infections of humans. Epidemiologie and
control. Ed. by Alfred S. Evans. New York - London, Plenum
Medical Book Company, 1976

Melnick, J.L.:

Classification and nomenclature of viruses. Prog. med. virol.

vol. 16, p. 337 - 342, 1973

Mix, T.:

The physical chemistry of membrane-virus interaction. Development in industrial microbiology, vol. 15, p.136 - 142, American Institute of Biological Science Arlington, 1974

Nasser, A:

Elimination von Enteroviren und Rotavirus SA 11 aus Wasser und Abwasser bei der Filtration durch Sandsäulen. Diss. FU Berlin, FB Biologie, 1984

Niemitz, W.:

Die weitergehende Abwasserreinigung aus der Sicht der Gemeinde und der Industrie. Gewässerschutz, Wasser, Abwasser, - Sonderdruck -, hrsg. von B. Böhnke, Aachen, Ges. z. Förderung d. Inst. f. Siedlungs-Wasserwirtschaft, 1974

O'Brien, R.T. and J. Newman:

Structural compositional changes associated with chlorine inactivation of polioviruses. Appl. Environm. Microbiol., vol. 38, no. 6, 1979

Ormsby, H.L., W.S. Aitchison:

The role of swimming pool in the transmission of pharyngeal-conjunctivitis fever. Can. med. Ass. J. 73, 864 - 866, 1955

Ottis, K.:

Vergleichende Untersuchungen über die Tensazität von Viren in Trink- und Oberflächenwasser. Diss. FB Tiermedizin, Ludwig-Maximilian-Universität, München, 1976

Palin, A.T.:

Methods for determination in water of free and combined available chlorine, chlorine dioxide and chloride using diethyl p-phenylen diamine. J. Inst. of Water Engineers 21, 537 - 552, 1967

Palin, A.T.:

The determination of free and combined chlorine in water by the use of diethyl p-phenylen diamine. J. AWWA, 49, 873 - 880, 1957

Paul, John:

Zell- und Gewebekulturen, de Gruyter, 1980

Pavoni, J.L. et.al.:

Water and sewage works, 119, 59, 1972

Peterson, D.A. et.al.:

Effect of chlorine treatment on infectivity of Hepatitis A. Virus. Appl. Environm. Microbiol. 45, 223, 1983

Primrose, S.B., N.J. Dimmock:

Introduction to modern virology. Sec. edi. basic microbiology vol. 2, Blackwell Scientific Publications, Oxford London, 1980

Rabotnowa, I.L.:

Die Bedeutung physikalisch-chemischer Faktoren (pH und rH_2) für die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen. VEB, Gustav Fischer Verlag, Jena. 1963

Ralfi, A.:

Virusbelastung von Oberflächenwasser in Ungarn. Zent. bl. Bakt. I Abt. Ref. 230, 386, 1972/1973

Rao, V.C., R. Sallivan, R.B. Read and N.A. Clarke:

A simple method for concentrating and detecting viruses in water. J. Amer. Wat. Wks. Ass. 60 - (11), 1288 - 1294, 1968

Roy, D., R.S. Engelbrecht and E.S.K. Chian:

Comperative inactivation of sex enteroviruses by ozone. J. AWWA, p. 660, Dez. 1982

Sarfert, F. und H.J.A. Altmann:

Verwendung von Ozon zur weitergehenden Abwasserreinigung in der Versuchsanlage WAR-Berlin, Berliner Entwässerungswerke - Abt. Laboratorien, 1981

Scarpino, P.V. et.al.:

Water Res. 6: 959, 1972

Schäfer, E.:

Public health aspects of viruses in water. Ed. by Clarke N.A., vol. 1, p. 14, 1970

Schr. Reihe Ver. Wass. Boden-Lufthyg. Berlin-Dahlem:

Die Desinfektion von Trinkwasser. 3 Aufl. Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 1970

Schuval, H.L., S. Gymbalista, B. Fattal and N. Goldblum:

Concentration of enteric viruses in water by hydro-extraction and two-phase separation. In: Transmission of viruses by the water route. Ed. by Berg G. Interscience, New York, 1967

Schuval, H.L., B. Fattal, S. Gymbalista and N. Goldblum:

The phase-separation method for the concentration and detection of viruses in water. Wat. Res. 3, 225 - 240, 1969

Schuval, H.L.:

Development in water quality research. Ann. Arbor, Ann Arbor-Humphery Science Publishers, p.47, 1970

Shaffer, P.T.B., T.G. Metcalf and O.J. Sproul:

Chlorine resistance of poliovirus isolants recovered from drinking water. Appl. Environm. Microbiol. vol. 40, no. 6, 1115 - 1121, Dec. 1980

Sharp, D.G.:

Viron aggregation and disinfection of water by chlorine and

bromine. Project summary, United States Environmental Protection Agency, Municipal Environm. Research Laboratory, EPA - 600/S2-82-022, August 1982

Sharp, D.G. and J. Leong:

Inactivation of poliovirus I (Bronhilde) single particles by chlorine in water. Appl. Environm. Microbiol. vol. 40, no. 2, 381 - 385, 1980

Sharp, D.G., D.C. Young, R. Floyd and J.D. Johnson:

Effect of ionic environment on the inactivation of poliovirus in water by chlorine. Appl. Environm. Microbiol. p. 530 - 534, March 1980

Sixt, H.:

Die anaerobe Abwasserreinigung. Verfahrenstechnik und Bemessungsgrundlagen. Forum Mikrobiologie 6, 76 - 84, 1983

Smith, E.M., M. Kolbestes, D.Y. Graham and C.P. Gerba:

A plaque assay for the simian Rotavirus SA 11. J. gen. Virol. 43, 514 - 519, 1979

Sproul, O.J., M. Warner, L.R. Larochelle and D.R. Brunner:

Virus removal by adsorption in waste water treatment processes. In Advances in Water Pollution Research, Jenkins, S.H. Ed. Pergamon Press, Oxford, p. 541, 1969

Sproul, O.J. et.al.:

In: Proceedings of the National Speciality Conference on Disinfections, p. 385, July 1970

Sproul, O.J.:

In: Viruses and water quality. Occurrence and control, Proceedings of the thirteenth Water Quality Conference, Univ. of Illinois Bulletin 69: 159, 1971

Starke, G., P. Hlinak:

Grundriß der Allgemeinen Virologie. VEB, Gustav Fischer Verlag
Jena, 1974

Stevenson, R.E., S.L. Chang, N.A. Clark and P.W. Kabler:

Concentration of dilute virussuspension by alum flocculation
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92, 764 - 767, 1956

Thorup, R.T. et.al.:

J. Amer. Water. Work. Assoc. 62:97, 1970

U.S. Dep. of Health and Human Services:

In: Water-related disease outbreaks. Centre for disease control,
Altona, Georgia 30333, annual summary 1981, issued Sept. 1982

Wallis, C. and J.L. Melnick:

Concentration of viruses on aluminum and calcium salts. Am. J.
Epidem 85(3), 459 - 468, 1967

Wallis, C. and J.L. Melnick:

Mechanism of enhancement of viruses plaques by cationic poly-
mers. J. of Virology, 267 - 274, Apr. 1968

Weidenkopf, S.J.:

Virology 5: 56, 1958

Wellings, F.M., A.L. Lewis and C.W. Mountain:

Demonstration of solids-associated virus in wastewater and
aludge. Appl. Environm. Microbiol. 31, 354, 1976

Wolf, H.W.:

Biological aspects of water J. Am. Wat. Wks. Ass. 63, 181 - 185,
1971

Yeager, J.G. and R.T. O'Brien:

Structural changes associated with Poliovirus inactivation in

in soil. Appl. Environm. Microbiol. vol. 38, no. 4, 702 - 709, 1979

Young, D.C., J.D. Johnson and D.G. Sharp:

The complex reaction kinetic of Echovirus I with chlorine in water. Proceedings of the society for experimental Biology and Medicine 156, 496 - 499, 1977

Young, D.C. and D.G. Sharp:

Partial reactivation of chlorine treated Echovirus. Appl. Environm. Microbiol. vol. 37, no. 4, p. 766 - 773, 1979

LEBENS LAUF

Name	A l B a z, Ismail
geboren	12.02.53 in Madaba/Jordanien
Eltern	Mohammed Al Baz, geb. 1900 in Jaffa und Halima Othman Jadallah, geb. 1926, leben seit 1948 in Jordanien
1960 - 1966	Grundschule in Madaba
1966 - 1969	Realschule
1969 - 1972	Gymnasium in Madaba, Abitur
Okt. 1973	Einreise in die Bundesrepublik Deutschland
1973 - 1974	Deutsch gelernt (privat)
1974 - 1975	Studienkolleg für ausländische Studierende in Frankfurt/Main
1975 - 1976	zwei Semester Chemie-Studium an der Universität Gießen
1976 - 1977	zwei Semester Chemie-Studium an der Universität Frankfurt/Main
1977 - 1981	Biologie-Studium an der Universität Oldenburg
13.12.1978	Vordiplom Biologie
07.10.1981	Diplom Biologie, Universität Oldenburg
ab SS 1982	Aufbau-/Promotionsstudium an der Freien Universi- tät Berlin



Dissertations- und Offsetdruck
Höpfner GmbH

Pestalozzistraße 106
(Ecke Bleibtreustraße)
1000 Berlin 12

Tel.: (030) 312 50 93
312 50 94

